COUNTWAY LIBRARY
HC 6EB8

BOSTON
MEDICAL LIBRARY
8 THE FENWAY

NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE

UND

PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG VON FACHGENOSSEN

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. KREHL † UND DR. W. STRAUB

EMER. PROF. DER SPEZIELLEN PATHOLOGIE UND THERAPIE IN HEIDELBERG

PROF. DER PHARMAKOLOGIE IN MÜNCHEN

197. BAND

MIT 215 ZUM TEIL FARBIGEN TEXTABBILDUNGEN (302 EINZELBILDERN)

BERLIN

SPRINGER-VERLAG

1941

BOSTON
APR 7 1949
MEDICAL LIBRARY

Printed in Germany

CATALOGUED
APR 7 1949
A. B.

Inhalt des 197. Bandes

Seite

Alwall, Nils, Über den Citronensäuregehalt und den Sauerstoffverbrauch verschiedener Muskeln 353

Amann, A., A. Jarisch und **H. Richter,** Die Wirkung der Mistel auf den Lungenkreislauf. Mit 3 Textabbildungen (8 Einzelbildern) 590

Áts, Maria, s. Anna Lánczos

Áts, Maria, s. Josef Sós und Georg Lichner

Augustin, Edgar, Der Gehalt der Plazenta an gonadotropem Hormon in den einzelnen Schwangerschaftsmonaten. Mit 11 Textabbildungen .. 292

Bazzi, M., s. P. Mascherpa

Berichtigung 122

Blumencron, Wilhelm von, Vergleichende Untersuchung der Wirkung verschiedener Saponine auf das Froschherz. Mit 4 Textabbildungen (7 Einzelbildern) 584

Enders, Alfred, Verträglichkeit und Ausscheidungsverhältnisse von Dicarbonsäuren 597

Fiedler, H., s. H.-A. Oelkers

Floren, W., und **H. J. Heite,** Über die Wirkung methämoglobinbildender Gifte auf einige körpereigene reduzierende Stoffe. Mit 2 Textabbildungen 338

Gaede, Dietrich, Über die Nikotinaufnahme aus Kautabak. Mit 1 Textabbildung 72

Seite

Göpfert, Herbert, und **Hans Schaefer,** Über die Mechanik des Wundstarrkrampfes. Mit 10 Textabbildungen (32 Einzelbildern) 93

Gotsev, T., Die Bedeutung der Blutgefäße und des Herzens für die Regulierung des Blutdruckes. VII. Mitteilung: Nikotin und Tabakrauch. Wirkung auf die Blutgefäße, das Herz und den Blutdruck. Mit 6 Textabbildungen (7 Einzelbildern) 1

Gotsev, T., Über die Art des Reagierens der Blutgefäße. Mit 5 Textabbildungen (7 Einzelbildern) 469

Gotsev, T., Die Bedeutung der Blutgefäße und des Herzens für die Regulierung des Blutdruckes. VIII. Mitteilung: Hypophysin, Tonephin, Ergotamin, Sympatol, Suprifen, Chloroform, Reizung des Rückenmarks u. a. Wirkung auf die Blutgefäße, das Herz und den Blutdruck. Mit 9 Textabbildungen 571

Gyulai, E., s. A. Simon

Haas, Hans T. A., Über die Fortleitung von Coriphosphin im Nervensystem. Mit 2 Textabbildungen 57

Haas, Hans T. A., Über die Beeinflussung des Histamingehalts der Haut durch Reizstoffe. Mit 2 Textabbildungen 161

Haas, Hans T. A., Über die Beeinflussung des Zellkerns durch Pharmaka 284

Hachmeister, W., Zur Methodik der Lungenembolieforschung. Mit 3 Textabbildungen 130

Heite, H. J., s. W. Floren

Hess, J., Über die Weckwirkung verschiedener Analeptica bei der Alkohol- und Chloralosenarkose. Mit 4 Textabbildungen 204

Heubner, Wolfgang, und **Hedwig von Restorff,** Bemerkungen zu der Arbeit von Hanny Hurschler: „Die Toxizität der Sulfanilamid-Derivate für das Blut usw." 666

Hildebrandt, F., Histamin im Blut und Gewebe unter dem Einfluß von Kurzwellen, Diathermie und Fango 148

Holste, A., Zum Nachweis gefäßerweiternder Wirkungen 426

Huf, Ernst, Die Uteruswachstumswirkung der Follikelhormone und der östrogenen Stilbene. Mit 4 Textabbildungen (5 Einzelbildern) ... 415

Seite

Hurschler, Hanny, Die Toxizität der Sulfanilamid-Derivate für das Blut und das blutbildende System im Tierversuch (Innenkörperanämien). Mit 1 Textabbildung (3 Einzelbildern) 438

Ipsen, Johs., Die Auswertung des direkten Giftwertes des Tetanusgiftes als Beispiel der biomathematischen Ausnutzung der Absterbedauer. Mit 3 Textabbildungen 536

Issekutz jr., B. v., Die Wirkung von Gefäßmitteln auf den lokalen Stoffwechsel des Muskels. Mit 4 Textabbildungen 313

Issekutz jr., B. v., Bestimmung des Blutsauerstoffs mittels lichtelektrischen Kolorimeters. Mit 2 Textabbildungen 332

Ivančevič, I., und **P. Stern,** Mutterkornalkaloide und Adrenalinumkehr. Mit 3 Textabbildungen 655

Janssen, Antwort auf die Diskussionsbemerkung von Herrn Jarisch ... 226

Jarisch, A., Um die wirksamen Prinzipien der Mistel. Diskussionsbemerkung 224

Jarisch, A., Die Bedeutung des Vagus für die Wirkung der Mistel und des Veratrins. (Die Spezifität des Bezold-Effektes.) Mit 2 Textabbildungen 266

Jarisch, A., s. A. Amann und H. Richter

Jung, Fritz, Zum Wirkungsmechanismus cholinergischer Stoffe. II. Mit 4 Textabbildungen 67

Keeser, Ed., Untersuchungen über die Beeinflußbarkeit des Purinstoffwechsels 187

Kesarbani, D. N., s. W. Straub

Kiessig, Hans-Joachim, Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica. VII. Über die temperatursteigernde Wirkung einiger Sympathicomimetica. Mit 2 Textabbildungen 384

Kiessig, Hans-Joachim, und **Gerhard Orzechowski,** Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica. VIII. Über die Beeinflussung der Schmerzempfindlichkeit durch Sympathicomimetica. Mit 12 Textabbildungen 391

Knebel, R., Die Elastizitätsverhältnisse des arteriellen Systems am Starlingschen Herzlungenpräparat. Mit 6 Textabbildungen 485

Seite

Knebel, R., Über den Einfluß des elastischen Widerstandes auf die Kreislaufverhältnisse am Herzlungenpräparat. Mit 8 Textabbildungen (14 Einzelbildern) 496

Knoche, E., Zum Problem der exo-erythrocytären Entwicklungsformen von Plasmodium gallinaceum. II. Mit 7 zum Teil farbigen Textabbildungen 240

Knoche, E., s. W. Schulemann

Kollath, Werner, Gerd Poetschke und **Emmy Thierfelder,** Wachstum und Zellersatz in der Vitaminforschung. XIV. Mitteilung: Über „Mesotrophie" und verfrühtes Alter als Mangelkrankheit: Fehlen von Wuchsstoffen. Mit 15 Textabbildungen 550

Konzett, Heribert, Neue broncholytisch hochwirksame Körper der Adrenalinreihe. Mit 7 Textabbildungen 27

Konzett, Heribert, Zur Pharmakologie neuer adrenalinverwandter Körper. Mit 13 Textabbildungen (23 Einzelbildern) 41

Lánczos, Anna, und **Áts, Maria,** Tätigkeitssteigerung der Schilddrüse durch thyreotropes Hormon beim metamorphosierten Kaltblüter. Mit 3 Textabbildungen (6 Einzelbildern) 123

Lánczos, Anna, Wirkung fortgesetzter Hefeeinnahme auf das physiologische Ergrauen. Mit 1 Textabbildung (2 Einzelbildern) 662

Lendle, L., Zur Frage der Potentialgiftwirkungen. Mit 3 Textabbildungen (7 Einzelbildern) 519

Leskovar, Rudolf, Über die Funktion des Sphincter Oddi. Mit 3 Textabbildungen 361

Lichner, Georg, s. Josef Sós und Maria Áts

Lissák, K., s. B. Rex-Kiss

Margitay-Becht, A., und **Gy. Petrányi,** Diurese-Untersuchungen bei adrenalektomierten Ratten nach Wasseraufnahme 405

Maschcrpa, P., und **M. Bazzi,** Wirkung der Cannabis sativa L. Var. indica Lam. auf die Atmung. Mit 5 Textabbildungen (10 Einzelbildern) 306

Never, Henry E., s. Erich Vincke

Seite

Oelkers, H.-A., Zur Wirkungsweise des Theophyllins. I. Mitteilung 193

Oelkers, H.-A., und **H. Fiedler,** Vergleichende Untersuchungen über die Wirkungsstärke des Morphins und seiner Derivate. II. Mitteilung 636

Orzechowski, Gerhard, s. Hans-Joachim Kiessig

Petrányi, Gy., Messung der Wirksamkeit des Nebennierenrindenhormons 409

Petrányi, Gy., s. A. Margitay-Becht

Poetschke, Gerd, s. Werner Kollath und Emmy Thierfelder

Restorff, Hedwig von, s. Wolfgang Heubner

Rex-Kiss, B., und **K. Lissák,** Über den Ca- und K-Gehalt der cholinergischen und adrenergischen Nervenelemente 259

Richter, H., Die Wirkung von Oxydantien auf das Froschherz. II. Mitteilung. Mit 3 Textabbildungen 137

Richter, H., s. A. Amann und A. Jarisch

Riechert, Willi, Beitrag zum Cardiazol-Lungenödem..... 620

Riechert, Willi, und **Theodor Wieland,** Untersuchungen über die Cholinesterase. Mit 5 Textabbildungen 629

Rietschel, Hans-Georg, Zur Frage der Sterilisation und quantitativen pharmakologischen Wertbestimmung verschiedener Arzneisubstanzen 275

Rischer, Freymuth, s. Hubert Vollmer

Schaefer, Hans, s. Herbert Göpfert

Schnittspahn, Ferd., Über die gegenseitige Beeinflussung der Wirkungen von Cardiazol und Spartein. Mit 5 Textabbildungen (7 Einzelbildern) 252

Schulemann, W., und **E. Knoche,** Zum Problem der exo-erythrocytären Entwicklungsformen von Plasmodium gallinaceum. I. Mit 3 Textabbildungen 227

Simesen, Margrethe Hejde, Untersuchungen über die Verteilung der Sulfanilamide im Blut..... 12

Seite

Simesen, Margrethe Hejde, Untersuchungen über das Verhalten des Albucid, Sulfapyridin, Azetylsulfapyridin und Sulfathiazol im Organismus. Mit 3 Textabbildungen 87

Simesen, Margrethe Hejde, Untersuchungen über das Verhalten des Sulfatiazols im Organismus. Mit 7 Textabbildungen (21 Einzelbildern) 429

Simon, A., und **E. Gyulai,** Zur Frage der Sekretion des Hypophysenhinterlappens in den Liquor nach Histamininjektion und in den Harn bei durstenden Tieren. Mit 4 Textabbildungen (5 Einzelbildern) 370

Sós, Josef, Georg Lichner und **Maria Áts,** Die Wirkung des D-Vitaminmangels und der oestrogenen Stoffe auf den Ca- und P-Gehalt der Knochen. Mit 1 Textabbildung 271

Stern, Pavao, Über die pharmakologische Wirkung von Chinuclidin und verwandten Verbindungen. Mit 2 Textabbildungen 377

Stern, P., s. Ivančević, I.

Straub, W., und **D. N. Kesarbani,** Eine Methode der biologischen Auswertung von Coffein. Mit 7 Textabbildungen (11 Einzelbildern).. 457

Thierfelder, Emmy, s. Werner Kollath und Gerd Poetschke

Vincke, Erich, und **Never, Henry E.,** Vergleichende Untersuchungen über die pharmakologische Wirkung von Chininpräparaten und Sulfanilamidderivaten. Mit 4 Textabbildungen (5 Einzelbildern) 78

Vollmer, Hubert, und **Freymuth Rischer,** Untersuchungen über die Beeinflussung von Harnmenge, Harnchlor, Harnkalium und Harnnatrium durch Injektion von Wasser oder Coffein bei variiertem Chlorgehalt der Nahrung. Mit 1 Textabbildung 611

Wieland, Theodor, s. Willi Riechert

Zain, H., Zum Ursprung der Endothelstadien des Plasmodium gallinaceum 210

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Sofia.
(Direktor: Prof. Dr. D. P. Orahovats.)

Die Bedeutung der Blutgefäße und des Herzens für die Regulierung des Blutdruckes.

VII. Mitteilung: Nikotin und Tabakrauch. Wirkung auf die Blutgefäße, das Herz und den Blutdruck.

Von

T. Gotsev.

Mit 6 Textabbildungen (7 Einzelbildern).

(Eingegangen am 7. August 1940.)

Über die Wirkung von Nikotin und Tabakrauch auf den Blutdruck und die Blutgefäße des Splanchnicusgebietes sowie über die Wechselbeziehungen der Veränderungen im funktionellen Zustand derselben Blutgefäße einerseits und des Blutdrucks andererseits haben wir schon früher etwas veröffentlicht (1) (2). Dort ist auch die über diese Frage vorhandene Literatur angegeben.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist, zu untersuchen, welchen Anteil die Blutgefäße und das Herz an den Veränderungen des Blutdrucks haben. Gleichzeitig haben wir versucht festzustellen, welcher Faktor die Veränderungen im Niveau des Blutdrucks nach intravenöser Injektion von Nikotin und Einatmung von Tabakrauch, d. h. bei Anwendung von zwei körperfremden Substanzen, beim Versuchstier verursacht. Es ist bekannt, daß sowohl bei Injektion von Nikotin wie bei Einatmung von Tabakrauch das Niveau des Blutdrucks beim Versuchstier eine große Veränderung zeigt, je nach der angewandten Dosis. Bei kleinen Dosen sowie bei langsamer Darreichung dieser zwei Substanzen tritt Erhöhung des Blutdrucks ein, während bei stärkeren Dosen und schnellerer Verabreichung kleiner Dosen eine zweiphasige Veränderung folgt, die sich in einem vorübergehenden Absinken und darauffolgender Erhöhung des Blutdrucks ausdrückt.

Für uns ist die Frage interessant, welchen Anteil die Blutgefäße an den Veränderungen des Blutdrucks haben, und ob in der Tat die Veränderungen in den Blutgefäßen Veränderungen im Niveau des Blutdrucks hervorrufen, wie allgemein angenommen wird, oder ob nicht ein anderer Faktor diese Veränderungen bedingt.

Obgleich die Mehrzahl der an dieser Frage interessierten Forscher gewisse Veränderungen in der Herztätigkeit bei Injektion von Nikotin oder Einatmung von Tabakrauch beobachten, wird doch die Veränderung im Niveau des Blutdrucks durch Veränderungen im Zustand der Blutgefäße

erklärt. Absinken des Blutdrucks erklärt man durch eine eintretende Erweiterung der Blutgefäße, Erhöhung durch Kontraktion derselben.

Unsere Versuche wurden an Hunden beiderlei Geschlechts und mittleren Alters vorgenommen. Zur Narkose wurde Luminalnatrium und nur in seltenen Fällen Morphinäther verwendet. Es wurden die Veränderungen in der Durchblutung zweier großer Gefäßgebiete untersucht — Splanchnicus und Extremitäten —, wobei gleichzeitig die Veränderungen im Niveau des Blutdrucks beobachtet wurden. Weiterhin wurde der Einfluß von Nikotin und Tabakrauch auf Tiere vor und nach Verkürzung des großen Blutkreislaufs untersucht, indem große Gefäßgebiete aus dem Blutkreislauf ausgeschaltet wurden. Zu diesem Zweck nahmen wir bei einigen Versuchen Evisceratio vor und untersuchten die Wirkungen gleicher Dosen Nikotin oder Tabakrauch vor und nach Entfernung der Bauchorgane. Bei anderen Versuchen hingegen wurden andere Gefäßgebiete aus dem großen Blutkreislauf ausgeschlossen, indem nur der Blutkreislauf der Bauchorgane intakt gelassen wurde, und wieder die Wirkungen der gleichen Dosen Nikotin und Tabakrauch vor und nach Verkürzung des Blutkreislaufs verglichen wurden. Zuletzt untersuchten wir die Veränderungen der Herztätigkeit, sowie auch die Wechselbeziehungen zwischen diesen und den Veränderungen des Blutdrucks andererseits.

Die Technik ist die gleiche, die wir bei unseren früheren Untersuchungen angewandt haben. Ihre Beschreibung findet sich in unseren früheren Mitteilungen. Die Nikotinlösungen wurden immer ex tempore aus Nikotin Kahlbaum hergestellt. Die Technik des Einatmens von Tabakrauch haben wir in Naunyn-Schmiedebergs Archiv, Bd. **185**, S. 553 (1937) beschrieben. Es wurden starke Zigaretten, Tomassian sert, verwendet.

Ergebnisse.

Blutgefäße.

A. Nikotin.

1. Dünndarm. Am häufigsten beobachtet man eine passive Reaktion der Blutgefäße, die auf Veränderungen im Niveau des Blutdrucks folgt: in den Fällen, in denen Erhöhung des Blutdrucks eintritt, erweitern sich die Blutgefäße des Dünndarms, erfolgt jedoch eine zweiphasige Veränderung im Niveau des Blutdrucks — Absinken und darauffolgende Erhöhung — so erscheint auch eine zweiphasige Veränderung im Zustande der Blutgefäße, die sich in vorübergehender Zusammenziehung und darauffolgender Erweiterung derselben zeigt. Die Veränderung im Zustande der Blutgefäße dauert verschieden lang an, in der Mehrzahl der Fälle ist sie vorüber, ehe noch der Blutdruck sein Ausgangsniveau erreicht hat (Abb. 1).

2. Milz. Die Milz zieht sich in allen Fällen zusammen. Eine Ausnahme davon haben wir nicht beobachtet. Die Kontraktion ist verhältnis-

mäßig stark ausgeprägt, die Oberfläche des Organs wird rauh, wie dies auch bei Adrenalininjektion beobachtet wurde. Zusammenziehung der Milz beobachtet man sowohl bei Erhöhung des Blutdrucks wie auch in den umgekehrten Fällen von Blutdruckabfall. Die Kontraktion der Milz dauert in einigen Fällen längere, in anderen kürzere Zeit als die Veränderung im Niveau des Blutdrucks.

3. Nieren. Meistens wurde Zusammenziehung der Blutgefäße der Nieren beobachtet, doch kann auch in seltenen Fällen Erweiterung derselben eintreten. Zusammenziehung der Blutgefäße tritt sowohl in Fällen von Erhöhung des Blutdrucks wie auch in Fällen von Absinken ein. Erweiterung der Blutgefäße wird in den Fällen beobachtet, in denen sich der Blutdruck erhöht, niemals jedoch bei Absinken des Blutdrucks. Unabhängig davon kommen Fälle vor, in denen bei ein und derselben Veränderung der Blutgefäße der Nieren nacheinander zwei entgegengesetzte Veränderungen des Niveaus des Blutdrucks erfolgen — Absinken und Erhöhung. Ein solcher Fall ist in Abb. 2 dargestellt, wo man sieht, daß nach Injektion von Nikotin eine andauernde Kontraktion der Nierenblutgefäße eintritt, während welcher der Blutdruck erst sinkt, danach langsam bis 60 mm über das Ausgangsniveau steigt und erhöht bleibt, auch nachdem die Veränderung in den Blutgefäßen schon vorüber ist. Während der Zeit, in der die Blutgefäße der Nieren kontrahiert sind, gehen nacheinander zwei entgegengesetzte Veränderungen im Niveau des Blutdrucks vor sich — Absinken und Erhöhung.

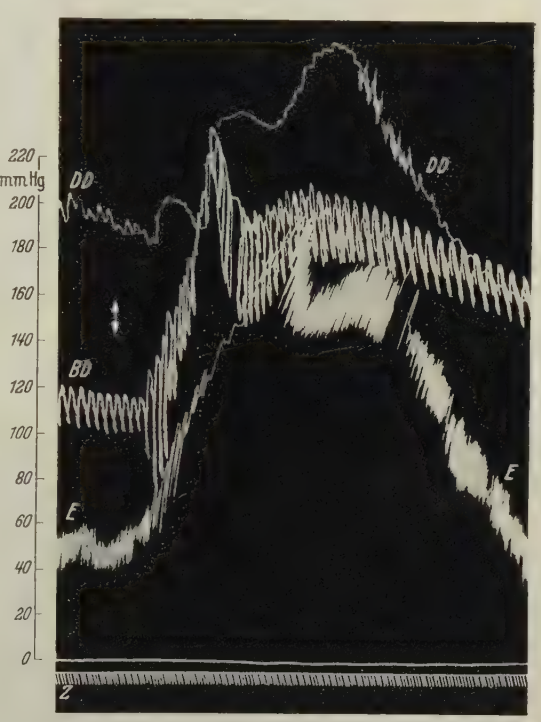


Abb. 1. 5. Juli 1940. 20 kg, ♂. *DD* = Dünndarmvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *E* = Extremitätsvolumen, *O* = Blutdrucknullniveau. *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ↕ wurde 0,2 mg Nikotin „Kahlbaum" in die V. jugularis ext. injiziert.

Nicht selten begegnet man Fällen, in denen trotz Eintreten von Kontraktion der Nierenblutgefäße und Erhöhung des Blutdrucks ein Abhängig-

keitsverhältnis zwischen der Erhöhung des Blutdrucks und den Veränderungen der Blutgefäße der Nieren nicht festgestellt werden kann. Ein

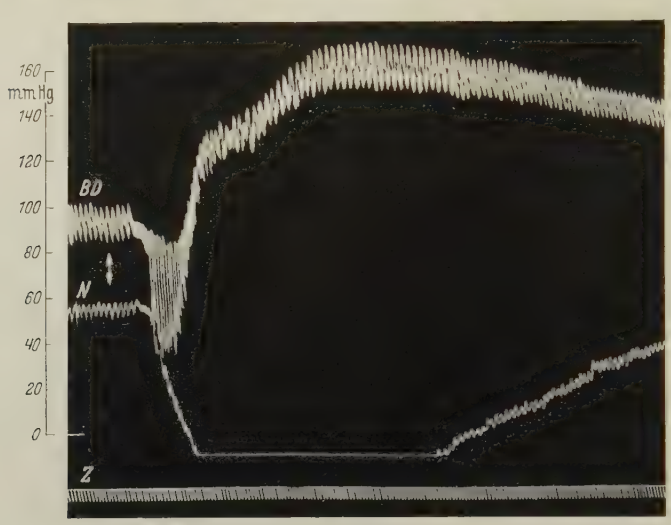


Abb. 2. 29. August 1939. Hund 9 kg, ♂. *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *N* = Nierenvolumen, *O* = Blutdrucknullniveau, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ↕ wurde 1,5 mg Nikotin „Kahlbaum" in die V. jugularis ext. injiziert.

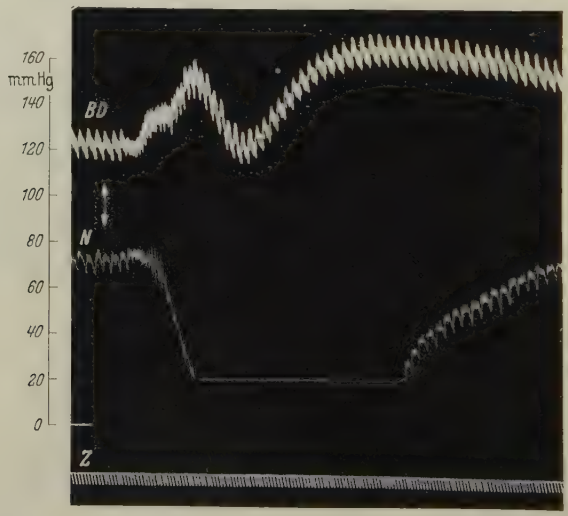


Abb. 3. 12. August 1939. Hund 9 kg, ♀. *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *N* = Nierenvolumen, *O* = Blutdrucknullniveau, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ↕ wurde 0,5 mg Nikotin „Kahlbaum" in die V. jugularis ext. injiziert.

solcher Fall ist in Abb. 3 dargestellt. Gleichzeitig mit der Zusammenziehung der Blutgefäße der Niere tritt eine kurzdauernde Erhöhung des

Blutdrucks ein, worauf der Blutdruck langsam absinkt, sein Ausgangsniveau erreicht und bald darauf wieder anfängt zu steigen. Hier bleibt der Blutdruck auf hohem Niveau, auch nachdem die Reaktion der Blutgefäße der Niere vorüber ist. Aus der Abbildung ersieht man, daß bei ein und derselben Veränderung im Zustand der Blutgefäße der Nieren — Kontraktion — drei verschiedene Veränderungen im Niveau des Blutdrucks eintreten: erstens Erhöhung um 30 mm, zweitens normales Niveau und drittens Erhöhung um 40 mm.

4. Extremitäten. Was die Veränderungen der Blutgefäße der Extremitäten betrifft, so muß auch hier gesagt werden, daß man am häufigsten eine passive Reaktion feststellt, die den Veränderungen im Niveau des Blutdrucks folgt: Erweiterung der Blutgefäße bei Erhöhung des Blutdrucks und Zusammenziehung bei Absinken. In Abb. 1 ist das Resultat eines Versuchs dargestellt, bei dem unter dem Einfluß von $^1/_5$ mg Nikotin Erhöhung des Blutdrucks um 70 mm über das Ausgangsniveau eintritt. Gleichzeitig mit dieser Veränderung erscheint auch stark ausgesprochene Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten. Dabei beobachtet man, daß die Veränderung in dem Zustand der Blutgefäße von kürzerer Dauer ist als die im Niveau des Blutdrucks, der hoch über seinem Ausgangsniveau bleibt, auch nachdem die Durchblutung der Organe ihren vorherigen Zustand wieder erreicht hat.

Die bisher beschriebenen Veränderungen im Zustand der Blutgefäße treten 1–3 Sekunden nach dem Anfang der Veränderung im Niveau des Blutdrucks ein und gehen ihnen in keinem einzigen Falle voraus.

B. Tabakrauch.

Bei Einatmen von Tabakrauch zeigen sich an den Versuchstieren dieselben Veränderungen im Niveau des Blutdrucks wie bei Injektion von Nikotin in die Vene, nämlich — Absinken bei größeren Dosen und Erhöhung bei kleineren. Auch die Veränderungen der Milz und die im Zustande der Blutgefäße des Dünndarms, der Nieren und der Extremitäten sind dieselben wie die unter Einwirkung von Nikotin.

Einige Autoren, z. B. Alessio (3), nehmen an, daß für die Wirkung von Nikotin und Tabakrauch kein Parallelismus bestehe und daß die wirksame Substanz im Tabakrauch ein anderer Bestandteil sei, nicht jedoch das Nikotin. Andere Autoren, z. B. Tournade und Malméjac (4), nehmen an, daß die wirksame Substanz das Nikotin ist.

Wir hatten die Möglichkeit, bei Versuchen an einer großen Anzahl Tiere festzustellen, daß die Wirkung von Nikotin und Tabakrauch absolut gleich ist, soweit es sich um Blutdruck und Blutgefäße handelt. Wenn man an ein und demselben Tier nacheinander die Wirkung von Nikotin und Tabakrauch untersucht, wird man sehen, daß Nikotin und Tabakrauch

die gleichen Veränderungen in den Blutgefäßen der Bauchorgane und im Blutdruck hervorrufen.

Das Resultat eines typischen Versuchs ist in Abb. 4 dargestellt. Zu Anfang des Versuchs wurde dem Tier Tabakrauch von einer Zigarette „Tomassian sert" einzuatmen gegeben. Als Folge davon trat Erhöhung des Blutdrucks ein und gleichzeitig damit Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten. Einige Minuten später, nachdem die Wirkung des Tabakrauchs aufgehört hatte, wurde in die V. jugularis ext. desselben Tieres $1/_2$ mg Nikotin injiziert — worauf dieselben Veränderungen eintraten, nämlich: Erhöhung des Blutdrucks und Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten.

Unsere Beobachtungen geben uns genügend Grund anzunehmen, daß die wirksame Substanz im Tabakrauch das Nikotin ist.

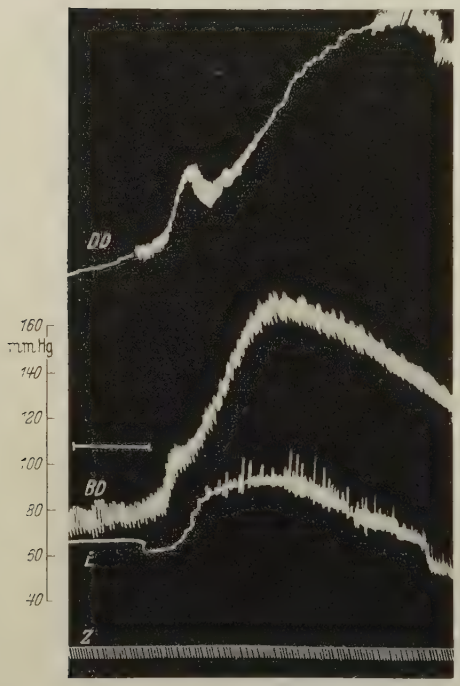


Abb. 4. 29. Juni 1939. Hund 7 kg, ♀. *DD* = Dünndarmvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *E* = Extremitätsvolumen. *Z* = Zeit in Sekunden. Bei |——| wurde dem Tiere Tabakrauch von Zigarette „Tomassian sert" einzuatmen gegeben.

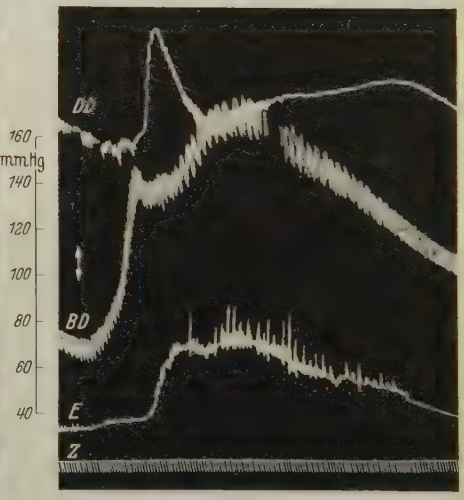


Abb. 4a. Derselbe Versuch. 10 Minuten später. Bei ↕ wurde 0,5 mg Nikotin „Kahlbaum" in die V. jugularis ext. injiziert.

Der Einfluß von Nikotin und Tabakrauch auf eviscerierte Tiere und solche mit verkürztem großem Blutkreislauf.

Die bisher dargelegten Resultate unserer Versuche zeigen, daß die nach Injektion von Nikotin und Einatmen von Tabakrauch auftretenden Veränderungen im Blutdruck in keinem Abhängigkeitsverhältnis zu den Veränderungen im Zustand der Blutgefäße der von uns untersuchten Gefäßgebiete des Splanchnicus und der Extremitäten stehen. In den meisten

Fällen handelt es sich um eine passive Veränderung im Zustand der Blutgefäße, während Milz und Nieren sowohl bei Erhöhung wie bei Absinken des Blutdrucks sich zusammenziehen.

Hier erhebt sich die Frage, welchen Anteil die übrigen Gefäße des Körpers an den Veränderungen des Blutdrucks haben — und ob sie überhaupt irgendwelche Rolle für seine Veränderungen spielen.

In einer Serie von Versuchen wurden Untersuchungen über die Wirkung von Nikotin auf den Blutdruck vor und nach Evisceratio an ein und demselben Tier vorgenommen. Zu diesem Zweck injizierten wir dem Tier zuerst eine bestimmte Dosis Nikotin und registrierten die Veränderungen im Niveau des Blutdrucks. Nach der darauffolgenden Evisceratio des Tieres wurde in dieselbe Vene dieselbe Dosis Nikotin injiziert und die Veränderung des Blutdrucks von neuem gemessen. Auf dieselbe Weise gingen wir mit anderen Tieren vor, denen vor und nach Evisceratio Tabakrauch einzuatmen gegeben wurde.

Auf diese Weise hatten wir die Möglichkeit, die Resultate der Einwirkung der einen und der anderen Substanz auf den Blutdruck vor und nach Abtrennung und Entfernung der Bauchorgane zu vergleichen. Bei allen diesen Versuchen hat sich ohne Ausnahme erwiesen, daß bei ein und demselben Tier gleiche Dosen Nikotin oder Tabakrauch gleiche Veränderungen im Niveau des Blutdrucks hervorrufen, sowohl vor wie nach Evisceratio. Unabhängig davon, ob das große Gefäßgebiet der Bauchorgane aus dem Blutkreislauf ausgeschaltet ist, erhalten wir die genau gleichen Wirkungen.

Bei anderen Tieren wurde die Verkürzung des großen Blutkreislaufs so vorgenommen, daß praktisch nur derjenige der Bauchorgane in Tätigkeit blieb, während alle übrigen Gefäßgebiete ausgeschaltet waren. Auch hier ergab Injektion von gleichen Dosen Nikotin bei dem gleichen Tier vor und nach Verkürzung des Blutkreislaufs die gleichen Veränderungen im Niveau des Blutdrucks. Dasselbe gilt für Tabakrauch.

So sehen wir, daß die Ausschaltung des großen Gefäßgebietes des Splanchnicus aus dem großen Blutkreislauf wie auch umgekehrt Ausschaltung der anderen Gefäßgebiete bei intaktem Splanchnicusgebiet die Art und Weise der Einwirkung auf den Blutdruck nicht verändert. Bei ungestört gelassenem großem Blutkreislauf sowie nach Ausschließung großer Gefäßgebiete treten die gleichen Veränderungen im Blutdruck ein.

Die Resultate dieser Versuche zeigen deutlich, daß die Blutgefäße keinen Anteil an den Veränderungen des Blutdrucks nach venöser Injektion von Nikotin oder Einatmung von Tabakrauch haben.

Einfluß von Nikotin und Tabakrauch auf die Herztätigkeit.

Schon die älteren Untersuchungen von Traube (5), Rosenthal (6) u.a. zeigen, daß Nikotin gewisse Störungen der Herztätigkeit verursacht: Beschleunigung oder Verlangsamung, Arrhythmie, diastolischer Herzstillstand usw.

An isoliertem Froschherz haben wir unter der Wirkung von Nikotin, das der Ringerschen Lösung beigefügt wurde, Verlangsamung und Abschwächung wie auch Beschleunigung und Verstärkung der Herztätigkeit beobachtet, entsprechend der der Lösung beigefügten Nikotinmenge. An Herzen von warmblütigen Tieren mit geöffnetem Brustkorb bei künstlicher Atmung hatten wir mehrmals die Möglichkeit, nur mit dem Auge die Veränderungen zu beobachten, die nach intravenöser Injektion von Nikotin in Rhythmus und Umfang der Herztätigkeit eintreten. Diese Veränderungen erscheinen als Beschleunigung und Förderung der Herztätigkeit bei Injektion von kleinen Dosen, als Verlangsamung und Abschwächung derselben bei größeren. Dazu muß bemerkt werden, daß diese Veränderungen parallel gehen mit den Veränderungen des Blutdrucks. Erhöhung des Blutdruckniveaus ist in allen Fällen von erhöhter Herztätigkeit begleitet, während Absinken des Blutdrucks mit Abschwächung zusammengeht. Bei Anwendung von größeren Dosen haben wir für eine gewisse Zeit distolischen Herzstillstand, und der Blutdruck fällt bis zum Nullpunkt des Quecksilbermanometers. Die Veränderungen in der Herztätigkeit und die Veränderungen im Blutdruck stehen in einem absoluten Abhängigkeitsverhältnis zueinander. Diese Tatsache ist durch einfache Beobachtung der Herztätigkeit nach Öffnung des Brustkorbs, Injektion von Nikotin und Registrierung des Blutdrucks festzustellen.

In einer Versuchsreihe wurden die Veränderungen im Tonogramm gleichzeitig mit denen im Niveau des Blutdrucks registriert, wobei wir eine vollkommene ursächliche Abhängigkeit der Veränderungen im Niveau des Blutdrucks von denen der Herztätigkeit fanden. Es wurde festgestellt, daß Erhöhung des Blutdrucks von Beschleunigung und Verstärkung, Absinken des Blutdrucks von Verlangsamung und Abschwächung der Herztätigkeit begleitet ist. Im ersten Falle tritt zugleich mit der Erhöhung des Blutdrucks Beschleunigung der Herztätigkeit und Vergrößerung der Höhe des Tonogramms ein, worauf das langsame Absinken des Blutdrucks bis zur Norm von stufenweiser Verlangsamung und Verringerung der Höhe der einzelnen Tonogramme begleitet ist; sobald der Blutdruck zu seinem Ausgangsniveau gelangt, erreichen die Tonogramme ihre Ausgangshöhe. Die gleiche vollkommene Abhängigkeit und der gleiche Parallelismus werden auch in Fällen von Absinken des Blutdrucks beobachtet.

In Abb. 5 ist das Resultat eines Versuches dargestellt, bei welchem dem Tiere Tabakrauch einzuatmen gegeben wurde. Man sieht, daß gleichzeitig mit der Erhöhung des Blutdrucks Beschleunigung der Herztätigkeit eintritt und die einzelnen Tonogramme erscheinen höher und höher, entsprechend der Erhöhung des Blutdrucks.

Ein anderer typischer Fall ist in Abb. 6 dargestellt, wo unter der Wirkung von $^1/_2$ mg Nikotin vorübergehendes Absinken, gefolgt von sekundärer Erhöhung des Blutdrucks auftritt. Man sieht, daß sich gleichzeitig mit dem Absinken des Blutdrucks Verlangsamung und Abschwächung

der Herztätigkeit zeigt. Die darauffolgende Erhöhung des Blutdrucks ist von Beschleunigung und Verstärkung der Herztätigkeit begleitet. Die vollständige Abhängigkeit der Veränderungen im Niveau des Blutdrucks von den Veränderungen in der Herztätigkeit ist augenfällig.

Die Resultate der Versuche erweisen, daß zwischen den Veränderungen im Niveau des Blutdrucks und denen der Herztätigkeit eine volle ursächliche Abhängigkeit besteht. Nikotin und Tabakrauch wirken positiv oder negativ auf die Herztätigkeit, je nach den angewandten Dosen. Die Veränderungen im Blutdruck sind eine Folge der Veränderungen in der Herztätigkeit.

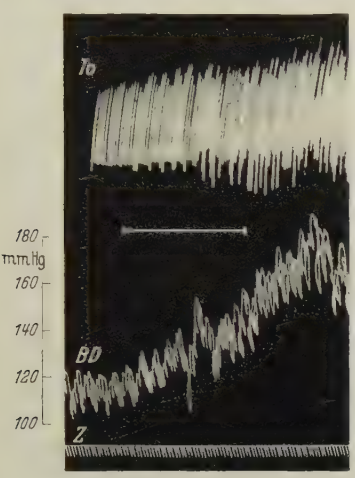


Abb. 5. 27. Juli 1940. Hund 17 kg, ♂. *To* = Tonogramm der linken Kammer. *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei |—| wurde dem Tiere Tabakrauch von Zigarette „Tomassian sert" einzuatmen gegeben.

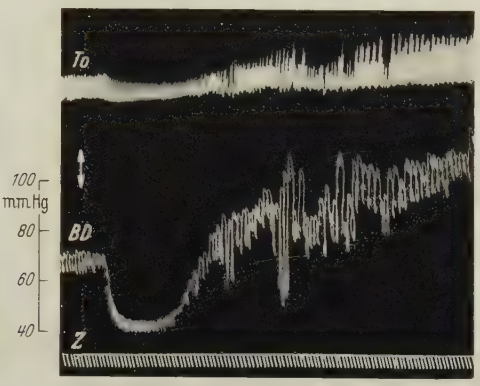


Abb. 6. 6. Juli 1940. Hund 18 kg, ♂. *To* = Tonogramm der linken Kammer. *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ▲▼ wurde 0,5 mg Nikotin „Kahlbaum" in die V. jugularis ext. injiziert.

Besprechung der Ergebnisse.

Aus dem bisher dargelegten Material geht klar hervor, daß die Veränderungen, die im Zustande der Blutgefäße der Bauchorgane und Extremitäten eintreten, nicht als Erklärung der Veränderungen im Niveau des Blutdrucks dienen können. Die Veränderungen im Blutdruck können nicht mit Veränderungen im Widerstand des Blutgefäßsystems erklärt werden, und zwar, weil die Veränderungen im Zustand der Blutgefäße meistens passiv sind, abhängig von der Höhe des Blutdrucks. Ein gewöhnliches Bild nach Injektion von Nikotin oder Einatmen von Tabakrauch ist Erhöhung des Blutdrucks und Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten. Andererseits vollzieht sich das Absinken des Blutdrucks gleichzeitig mit Verringerung des Umfangs der Organe. Entsprechend unserem jetzigen Wissen über diese Frage sollte man erwarten.

daß bei Erweiterung der Blutgefäße der großen Gefäßgebiete Absinken, bei Zusammenziehung der Gefäße derselben Gebiete Erhöhung des Blutdrucks eintreten werde. Das haben wir jedoch bei unseren Versuchen nicht beobachtet. Die Versuche beweisen, daß die Veränderungen im Zustande der Blutgefäße sekundär und passiv sind und infolge der Veränderungen im Niveau des Blutdrucks auftreten.

Die Veränderungen in der Herztätigkeit und im Blutdruck sind in allen Fällen zu beobachten, sowohl bei ungestörtem großen Blutkreislauf, wie bei verkürztem großen Blutkreislauf. Nikotin und Tabakrauch verursachen die gleichen Veränderungen im Blutdruck, unabhängig davon, ob große Gefäßgebiete aus dem allgemeinen Blutkreislauf ausgeschlossen sind oder nicht.

Die Versuche geben genügend Grund anzunehmen, daß Nikotin und Tabakrauch direkt auf die Herztätigkeit wirken, und daß als Folge davon die eine oder die andere Veränderung im Niveau des Blutdrucks eintritt. Die Blutgefäße verhalten sich rein passiv.

Zusammenfassung.

1. Nikotin und Tabakrauch haben die gleiche Wirkung auf das Niveau des Blutdrucks und die Blutgefäße von Hunden. Kleine Dosen verursachen Erhöhung, große Dosen Absinken des Blutdrucks. In den meisten Fällen erleiden die Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten eine passive Veränderung, die der Veränderung im Niveau des Blutdrucks folgt, nämlich: Erweiterung der Blutgefäße bei Erhöhung und Zusammenziehung bei Absinken des Blutdrucks. Die Milz zieht sich in allen Fällen zusammen. Die Blutgefäße der Nieren ziehen sich in den meisten Fällen zusammen, in einigen selteneren erweitern sie sich. Die Veränderungen in der Milz und die in den Blutgefäßen der Nieren treten unabhängig davon ein, welche Veränderungen im Blutdruck vor sich gehen. Mit anderen Worten, Zusammenziehung der Milz und der Blutgefäße der Nieren beobachtet man sowohl in Fällen von Erhöhung wie von Absinken des Blutdrucks.

2. Bei eviscerierten, dekapitierten und Tieren mit verkürztem großen Blutkreislauf haben Nikotin und Tabakrauch die gleiche Wirkung auf das Niveau des Blutdrucks wie bei Tieren mit intaktem Blutkreislauf.

3. Nikotin und Tabakrauch üben eine direkte Wirkung auf die Herztätigkeit aus, die positiv oder negativ sein kann, je nach der angewandten Dosis. Kleine Dosen verursachen positive, große Dosen negative Reaktionen.

4. Die Veränderungen im Blutdruck nach Anwendung von Nikotin oder Tabakrauch sind durch die Veränderungen in der Herztätigkeit bedingt. Erhöhung des Blutdrucks ist von Verstärkung der Herztätigkeit

begleitet, während Absinken des Blutdrucks gleichzeitig mit Verringerung der Herztätigkeit auftritt. Es besteht ein absolutes Abhängigkeitsverhältnis zwischen den Veränderungen des Blutdrucks und der Herztätigkeit.

5. Das Herz ist der Hauptfaktor, der den Blutdruck bei Anwendung von Nikotin und Tabakrauch verändert. Die Blutgefäße haben eine nur passive Rolle.

Literatur.

1) Gotsev, T.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 275 (1936). — 2) Gotsev, T.: Ebenda **185**, 553 (1937). — 3) Alessio, Fr.: Giornale di clinica Medica, H. XVI—XVII (1924). — 4) Tournade, A., u. I. Malméjac: Bull. de l'Acad. Roy. de Med. de Belgique, Seance du 25 octob. 1930, S. 653 (1930). — 5) Traube: Gesammelte Beiträge zur Path. u. Phys. **1**, 303 (1862). — 6) Rosenthal, J.: Zbl. med. Wiss. **47**, 737 (1863).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kopenhagen.
(Prof. Dr. K. O. Møller.)

Untersuchungen über die Verteilung der Sulfanilamide im Blut*.

Von

Margrethe Hejde Simesen.

(Eingegangen am 23. Oktober 1940.)

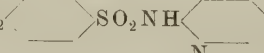
Über die Verteilung der Sulfanilamide im Blute liegen bisher nur wenige Untersuchungen vor, die recht widersprechende Resultate ergeben haben. Hansen[1] findet, daß Sulfanilamid, welches sich nach Marshalls[2] Untersuchungen nach der wässerigen Phase verteilt, in den Blutkörperchen in größerer Konzentration auftritt. Zu dem gleichen Ergebnis kommt Size[3], der außerdem gezeigt hatte, daß diese Verteilung auch in „in vitro"-Versuchen vorhanden ist. Baines und Wien[4], die die Verteilung des Sulfapyridins im Kaninchenblut untersucht haben, finden, daß die Blutkörperchen kein Sulfapyridin enthalten, während Marshall und Litchfield[5] in Hundeversuchen gleiche prozentische Mengen Sulfapyridin in den Blutkörperchen, Plasma und im Totalblut gemessen haben. Weitere Untersuchungen scheinen nicht vorzuliegen, und der Zweck dieser Arbeit war daher, die Verteilung folgender Verbindungen im Blute zu untersuchen:

Sulfanilamid (p-Aminobenzolsulfonamid),

Azetylsulfanilamid (p-Azetylaminobenzolsulfamid),

Albucid (p-Aminobenzolsulfonazetylamid),

Sulfanilacetamid (p-Aminobenzolsulfonacetamid),

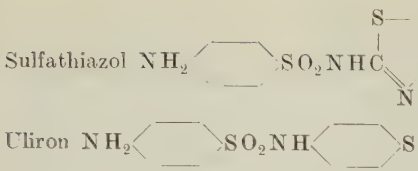
Sulfapyridin  (p-Aminobenzolsulfonamidopyridin),

Azetylsulfapyridin (p-Azetylaminobenzolsulfonamidopyridin),

---

* Für Überlassung der verschiedenen Sulfanilamidpräparate möchte ich der I. G. Farbenindustrie, Aktiengesellschaft Ferrosan, Løvens Kemiske Fabrik und A. G. Schering meinen besten Dank sagen.

[1] Hansen, Lorenz: J. Pharmacol. (Am.) **65**, 372 (1939). — [2] Marshall, Emerson u. Cutting: Ebenda **61**, 196 (1937). — [3] Size, H. L.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **40**, 451 (1939). — [4] Baines u. Wien: Quart. J. Pharmacy XII, 4 (1939). — [5] Marshall u. Litchfield: J. Pharmacol. (Am.) **40**, 451 (1939).



(p-Aminobenzolsulfonamidothiazol),

4-(4-Aminobenzolsulfonamid) benzolsulfondimethylamid.

Zwar werden weder Azetylsulfanilamid noch Sulfanilacetamid in der Therapie angewendet; da aber die erstgenannte Verbindung aus Sulfanilamid im Organismus gebildet wird, und da beide mit Albucid isomer sind, wurden sie in dieser Untersuchung mit berücksichtigt.

Die Verteilung im Blute wurde teils nach intravenöser und teils nach oraler Zufuhr der Stoffe bei Kaninchen, und für die therapeutisch angewandten Stoffe auch beim Menschen untersucht.

Versuchstechnik.

Dem Blut werden ein gerinnungshemmender Stoff zugesetzt (5 mg Heparin oder 7 mg Liquid Roche pro 10 ccm Blut) und zunächst Proben zur Bestimmung der Sulfanilamidkonzentration im Totalblut und zur Zellenvolumenbestimmung mit dem Hämatokrit entnommen. Der Rest wird in einer schnellaufenden Zentrifuge (12000 Umdrehungen/Minute) $^1/_4$ Stunde zentrifugiert, wonach die Blutkörperchenmasse durchscheinend ist. Der größte Teil des Plasmas wird abgesaugt und zur Bestimmung der Sulfanilamidkonzentration im Plasma benutzt. Das übrige Plasma und die weißen Blutkörperchen werden durch vorsichtiges Saugen mit einem Kapillarrohr entfernt. In den abzentrifugierten roten Blutkörperchen wird die Sulfanilamidkonzentration direkt bestimmt, wozu der Blutkörperchenbrei vom Boden des Zentrifugenglases aufgesogen wird. Die Mengen von Plasma und Totalblut werden mit Hilfe von Pipetten bestimmt, während die Blutkörperchenmenge — wegen der großen Viskosität und der variierenden Menge, die zur Verfügung steht, durch Wiegen gemessen wird. Das Blutkörperchenvolumen wird aus dem Gewicht bestimmt, wobei das spezifische Gewicht zu 1,1 gesetzt wird. Die Sulfanilamidkonzentration wird in mg/100 ccm Blut bzw. Plasma und Blutkörperchen angegeben.

Die Sulfanilamidbestimmung erfolgt nach den Angaben von Hecht[6]. Wegen der begrenzten zur Verfügung stehenden Blutmenge wurde jedoch die Hydrolyse im Reagensglas im Wasserbad auf folgende Weise vorgenommen: Je nach der zu erwartenden Konzentration werden 2–10 ccm des alkoholischen Filtrats der Eiweißfällung in ein nicht zu enges Reagensglas abpipettiert. Der Alkohol wird im Wasserbad abgedampft, bis das Volumen des Filtrats etwa 1 ccm ist, $^1/_2$ ccm Kjeldahlnatron zugesetzt und umgerührt. Das Glas steht dann eine halbe Stunde im kochenden Wasserbad. Wenn die überschüssige Lauge mit konzentrierter Salzsäure neutralisiert und die Diazotierung im gleichen Glas wie die Hydrolyse vorgenommen wird, kann das Schlußvolumen der Analyse auf 5 ccm begrenzt und Mengen bis zu 2 γ bestimmt werden.

In Tabellen 1–16 sind die Ergebnisse der Versuche zusammengestellt. Die Differenz zwischen der Gesamtmenge und der freien Menge der Sulfanilamidverbindung ist als azetyliert angeführt. Für die Sulfanilamidkonzentration in den Blutkörperchen finden sich zwei Reihen von Werten. Die

[6] Hecht, G.: Derm. Wschr. **106**, 261 (1938).

eine gibt die Resultate der direkten Analyse der Blutkörperchen, die jedoch nicht immer durchführbar war. Die in Klammern angeführten Werte bezeichnen den aus den Hämatokritwerten und den im Plasma und Totalblut gefundenen Konzentrationen berechneten Sulfanilamidgehalt der Blutkörperchen. Die indirekte Bestimmung ist ziemlich ungenau, aber die Zahlen sind hier angeführt, weil die direkte Bestimmung, wie erwähnt, nicht immer möglich war, und weil auch diese wegen zu kleiner Blutmengen und zu niedriger Konzentration ungenau sein kann.

Im folgenden sollen zunächst die mit jeder einzelnen Verbindung gewonnenen Resultate und dann die Ergebnisse insgesamt diskutiert werden.

Tabellen 1—16.

Die Differenz zwischen der totalen und freien Sulfanilamidmenge ist als azetyliert angeführt. Wenn die Konzentration in den Blutkörperchen in Klammern angeführt steht, ist diese indirekt aus den im Plasma und Gesamtblut gefundenen Resultaten berechnet worden. Bei Werten ohne Klammern handelt es sich um direkte Konzentrationsbestimmungen in den Blutkörperchen. Bei Berechnungen, die von den Konzentrationen in den Blutkörperchen ausgehen, wurde, soweit mehr als ein Wert vorlag, der Mittelwert benutzt.

Die Zahlen innerhalb des gleichen Querstriches stammen von gleichen Versuchstieren.

Tabelle 1. Intravenöse Sulfanilamideingabe bei Kaninchen.

Eingabe cg/kg	Zeit in Std.	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm		
				total	frei	azetyliert
13,6	1/3	36,5	Blut		17,0	
			Plasma		17,7	
			Blutkörperchen		(15,9)	
	1	36,5	Blut		14,2	
			Plasma		14,4	
			Blutkörperchen		(14,0)	
	2	36,5	Blut		10,9	
			Plasma		10,8	
			Blutkörperchen		(11,1)	
19,5	1/2	37,5	Blut		19,2	
			Plasma		18,2	
			Blutkörperchen		(21,0)	
	1 1/2	37,5	Blut		25,0	
			Plasma		25,0	
			Blutkörperchen		(25,0)	
	2 1/2	37,5	Blut		25,4	
			Plasma		—	
			Blutkörperchen		—	
	6	37,5	Blut		8,1	
			Plasma		7,4	
			Blutkörperchen		(9,7)	

Die Tiere waren anscheinend nicht von der Injektion beeinflußt.

Tabelle 2. Perorale Sulfanilamideingabe bei Kaninchen.

Eingabe cg/kg	Zeit in Std.	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm total	frei	azetyliert
75	$1^3/_4$	39	Blut	36,6	28,2	8,4
			Plasma	37,3	26,2	11,1
			Blutkörperchen	40,8	26,4	14,4
				(35)	(31)	(4)
Nächster Tag 94	$2^1/_4$	39	Blut	43,0	22,5	20,5
			Plasma	43,0	23,2	19,8
			Blutkörperchen	43,2	16,5	26,7
				(43)	(21)	(22)
	6	39	Blut	44,4	14,0	30,4
			Plasma	43,9	12,3	31,6
			Blutkörperchen	49,9	18,7	31,2
				(45)	(17)	(28)

2 Tage nach der letzten Eingabe wurde das Tier im Hinterkörper gelähmt. war aber 5 Tage nach der Eingabe wieder hergestellt.

Tabelle 3. Perorale Sulfanilamideingabe beim Menschen.

Eingabe pro Tag	Gewicht in kg	Zeit zwischen letzter Eingabe und Blutprobe	Hamatokrit		Gefunden mg/100 ccm total	frei	azetyliert
3×0,6 g in 3 Tagen	68	2—3 Std.	53	Blut	5,0	1,9	3,1
				Plasma	3,8	1,6	2,2
				Blutkörperchen	5,8	1,9	3,9
					(6,1)	(2,2)	(3,9)
3×0,3 g in 3 Tagen	55	2—3 Std.	30	Blut	2,7	2,1	0,6
				Plasma	1,9	1,8	0,1
				Blutkörperchen	4,2	2,8	1,4
					(4,4)	(3,0)	(1,4)
3×0,5 g in 6 Tagen	55	2—3 Std.	35	Blut	3,2	2,4	0,8
				Plasma	2,9	2,0	0,9
				Blutkörperchen	4,9	2,2	2,7
					(3,8)	(2,7)	(1,1)
3×0,3 g in 3 Tagen	70	2—3 Std.	30	Blut	1,6	0,8	0,8
				Plasma	0,9	0,6	0,3
				Blutkörperchen	2,7	1,0	1,7
					(3,2)	(1,3)	(1,9)
3×0,6 g in 3 Tagen	69	2—3 Std.	42	Blut	1,5	0,3	
				Plasma	0,8	0,4	
				Blutkörperchen	2,4	0,3	
					(2,4)		
3×0,6 g in 3 Tagen	74	2—3 Std.	45	Blut	2,3	0,6	
				Plasma	1,4	0,7	
				Blutkörperchen	2,8	0,6	
					(3,4)		
3×0,6 g in 3 Tagen	68	15 Std.	42	Blut	2,3	0,6	
				Plasma	1,3		
				Blutkörperchen	2,7		
					(3,7)		

Tabelle 4. Perorale Azetylsulfanilamideingabe bei Kaninchen.

Eingabe cg/kg	Zeit in Std.	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm total	frei	azetyliert
91	$2^1/_4$	32	Blut	16,9	Spur	
			Plasma	18,0		
			Blutkörperchen	18,9		
				(14,6)		
	6	32	Blut	20,6	Spur	
			Plasma	20,7		
			Blutkörperchen	21,7		
				(20,4)		
Nächster Tag 91	$1^1/_4$	33	Blut	23,9	Spur	
			Plasma	24,0		
			Blutkörperchen	24,6		
				(22,9)		
	8	33	Blut	23,3	0,8	
			Plasma	23,1	0,7	
			Blutkörperchen	24,0	0,9	
				(24,0)	(1,0)	

Tabelle 5. Perorale Albucideingabe bei Kaninchen.

Eingabe cg/kg	Zeit in Std.	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm total	frei	azetyliert
57	2	38	Blut	13,2	8,8	4,4
			Plasma	15,2	10,9	4,3
			Blutkörperchen	13,4	5,4	8,0
				(10,0)	(5,3)	(4,7)
	5	38	Blut	14,2	9,6	4,6
			Plasma	14,0	9,1	4,9
			Blutkörperchen	13,2	9,0	4,2
				(14,7)	(10,5)	(4,2)
Nächster Tag 57	3	41	Blut	12,2	8,2	4,0
			Plasma	14,0	8,7	5,3
			Blutkörperchen	6,0	5,7	0,3
				(9,6)	(7,6)	(2,0)
	6	37	Blut	15,3	5,3	10,0
			Plasma	17,0	5,9	11,1
			Blutkörperchen	14,5	4,6	9,9
				(12,5)	(4,3)	(8,2)

Tabelle 6. Perorale Albucideingabe beim Menschen.

Eingabe pro Tag	Gewicht in kg	Zeit nach letzter Eingabe	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm total	frei	azetyliert
3×1 g in 3 Tagen	75	2 Std.	45	Blut	3,9	1,6	2,3
				Plasma	2,7	1,3	1,4
				Blutkörperchen	5,2		
					(5,4)	(2,0)	(3,4)

Tabelle 6 (Fortsetzung).

Eingabe pro Tag	Gewicht in kg	Zeit nach letzter Eingabe	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm total	frei	azetyliert
3×1 g in 3 Tagen	75	2 Std.	47	Blut	4,9	1,9	3,0
				Plasma	3,3	1,9	1,4
				Blutkörperchen	6,0	1,7	4,3
					(6,5)	(1,9)	(4,6)
3×1 g in 3 Tagen	64	2 Std.	44	Blut	4,6	1,4	3,2
				Plasma	3,8	1,3	2,5
				Blutkörperchen	5,8	1,4	4,4
					(5,7)	(1,5)	(4,2)
3×1 g in 3 Tagen	73	2 Std.	44	Blut	3,4	1,0	2,4
				Plasma	2,3	0,9	1,4
				Blutkörperchen	4,6	1,0	3,6
					(4,8)	(1,1)	(3,7)
3×1 g in 3 Tagen	80	2 Std.	45	Blut	2,3	0,8	
				Plasma	1,9		
				Blutkörperchen	2,9		
					(2,8)		
3×1 g in 3 Tagen	82	2 Std.	50	Blut	3,2	0,9	
				Plasma	2,0		
				Blutkörperchen	4,0		
					(4,5)		

Tabelle 7. Perorale Sulfanilacetatamideingabe bei Kaninchen.

Eingabe cg/kg	Zeit in Std.	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm total	frei	azetyliert
62,5	$1^1/_2$	35	Blut	11,1	10,2	0,9
			Plasma	11,1	9,5	1,6
			Blutkörperchen	10,7	9,5	1,2
				(11,1)	(11,6)	(0)
	6	35	Blut	15,2	14,9	0,3
			Plasma	13,6	13,5	0,1
			Blutkörperchen	17,8	16,4	1,4
				(18,0)	(17,5)	(0,5)
Nächster Tag 47	3	35	Blut	21,2	21,2	0
			Plasma	19,6	19,4	0
			Blutkörperchen	21,6	21,4	0
				(24,6)	(24,6)	
	9	35	Blut	7,5	6,7	0,8
			Plasma	7,7	6,3	1,4
			Blutkörperchen	8,0	7,3	0,7
				(7,0)	(7,4)	
	24	35	Blut	2,3	1,4	0,9
			Plasma	1,8	1,2	0,6
			Blutkörperchen	2,3	1,6	0,7
				(3,4)	(2,2)	(1,2)

Tabelle 8. Intravenöse Sulfapyridineingabe bei Kaninchen.

Eingabe cg/kg	Zeit in Std.	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm total	frei	azetyliert	Spezielle Verhältnisse
21,6	1/2	35	Blut				Das Tier bekam während der Injektion einen Schock, starb 2 Tage später, keine Paresen.
			Plasma		23		
			Blutkörperchen				
	3 1/4	35	Blut		5,6		
			Plasma		5,5		
			Blutkörperchen		(5,8)		
	5 1/2	35	Blut		1,2		
			Plasma		1,6		
			Blutkörperchen		(0,4)		
19	3/4	37	Blut	21,2	7,0	14,2	Wurde sofort im Hinterkörper gelähmt. Getötet nach 3 Tagen, dauernd gelähmt.
			Plasma	22,2	7,0	15,2	
			Blutkörperchen	(19,4)	(7,0)	(12,4)	
	3	32	Blut	8,1	6,3	0,8	
			Plasma	10,0	8,8	1,2	
			Blutkörperchen	(4,1)	(4,0)	(0,1)	
16	1/2	40	Blut	17,9	16,1	1,8	War anscheinend nicht von der Injektion beeinflußt.
			Plasma	20,6	18,0	2,6	
			Blutkörperchen	(13,6)	13,0	(0,6)	
	1	40	Blut	14,2	13,0	1,2	
			Plasma	17,2	14,2	3,0	
			Blutkörperchen	(9,7)	(11,2)		
	3	40	Blut	7,0	4,5	2,5	
			Plasma	9,0	5,1	3,9	
			Blutkörperchen	(4,0)	(3,6)	(0,4)	
	5	36	Blut	3,9	2,4	1,5	
			Plasma	3,4	2,4	3,0	
			Blutkörperchen	(1,3)	(2,4)		

Tabelle 9. Perorale Sulfapyridineingabe bei Kaninchen.

Eingabe cg/kg	Zeit in Std.	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm total	frei	azetyliert
54	2	42,5	Blut	13,6	1,4	12,2
			Plasma	19,3	1,6	17,7
			Blutkörperchen	6,3		
				(5,7)	(1,1)	(4,6)
	4	42,5	Blut	15,2	2,8	12,4
			Plasma	20,6	2,5	18,1
			Blutkörperchen	7,8		
				(7,8)	(3,2)	(4,6)
	6	42,5	Blut	14,2	1,0	13,2
			Plasma	18,3	1,3	17,0
			Blutkörperchen	6,8		
				(8,5)	(0,6)	(7,9)

Tabelle 10. Perorale Sulfapyridineingabe beim Menschen.

Eingabe pro Tag	Zeit nach letzter Eingabe	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm		
				total	frei	azetyliert
4—6 g	2—3 Std.	45	Blut	8,8	6,1	2,7
			Plasma	8,9	6,1	2,8
			Blutkörperchen	6,2	5,7	0,5
				(8,7)	(6,1)	(2,6)
6 g	2—3 Std.	46	Blut	11,2	8,6	2,6
			Plasma	11,8	8,8	3,0
			Blutkörperchen	11,5	8,5	3,0
				(10,4)	(8,3)	(2,1)
4 -6 g	2—3 Std.	48	Blut	3,0	1,0	2,0
			Plasma	4,0	1,3	2,7
			Blutkörperchen	2,3	0,8	1,5
				(1,9)	(0,8)	(1,1)
4 g	2—3 Std.	43	Blut	4,5	2,6	1,9
			Plasma	5,2	2,3	2,9
			Blutkörperchen	2,8	2,5	0,3
				(4,3)	(2,3)	(2,0)
3 g	2—3 Std.	42	Blut	4,6	3,6	1,0
			Plasma	5,0	4,0	1,0
			Blutkörperchen	3,2	2,7	0,5
				(4,0)	(2,8)	(1,0)

Tabelle 11. Perorale Azetylsulfapyridineingabe bei Kaninchen.

Eingabe cg kg	Zeit in Std.	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm		
				total	frei	azetyliert
56	3	38	Blut	10,0	1,6	8,4
			Plasma	14,5	1,4	13,1
			Blutkörperchen	5,0		
				(2,7)	(1,9)	(0,8)
Nächster Tag 56	2	33	Blut	12,9	—	
			Plasma	15,8		
			Blutkörperchen	(7,0)		
Nächster Tag 56	4	36	Blut	11,1	—	
			Plasma	16,7		
			Blutkörperchen	5,2		
				(1,1)		

Tabelle 12. Perorale Azetylsulfapyridineingabe beim Menschen.

Eingabe pro Tag	Gewicht in kg	Zeit nach letzter Eingabe	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm		
					total	frei	azetyliert
4–6 g		2–3 Std.	41	Blut	4,1	0,9	3,2
				Plasma	5,1	0,9	4,2
				Blutkörperchen	2,7	0,5	2,2
					(2,7)	(0,9)	(1,8)
1,5 g	74	2–3 Std.	45	Blut	0,7		
				Plasma	0,8		
				Blutkörperchen	0,7		
					(0,6)		
3 g	61	2–3 Std.	42	Blut	3,5	< 0,2	
				Plasma	4,8		
				Blutkörperchen	1,6		
					(1,4)		
3 g	75	2–3 Std.	45	Blut	1,7	0,7	1,0
				Plasma	1,9	0,7	1,2
				Blutkörperchen	1,3	0,4	0,9
					(1,5)	(0,7)	(0,8)

Tabelle 13. Perorale Sulfathiazoleingabe beim Menschen.

Eingabe pro Tag	Zeit zwischen letzter Eingabe und Blutprobe	Hämatokrit		Gefunden mg 100 ccm		
				total	frei	azetyliert
1 g × 6	2–3 Std.	43	Blut	2,5	1,5	1,0
			Plasma	3,8	2,2	1,6
			Blutkörperchen	1,1	0,7	0,4
				(0,8)	(0,6)	(0,2)
1 g × 6	2–3 Std.	50	Blut	3,4	2,4	1,0
			Plasma	5,5	4,0	1,5
			Blutkörperchen	1,7	1,1	0,4
				(1,3)	(0,8)	(0,5)
1 g × 6	2–3 Std.	38	Blut	6,3	5,3	1,0
			Plasma	9,2	7,5	1,7
			Blutkörperchen	3,9	3,0	0,9
				(1,6)	(1,7)	(–)
1 g × 6	2–3 Std.	40	Blut	7,5	5,8	1,7
			Plasma	11,6	8,9	2,7
			Blutkörperchen	4,2	3,2	1,0
				(1,2)	(1,2)	(–)
1 g × 6	2–3 Std.	37	Blut	5,9	4,6	1,3
			Plasma	8,1	6,4	1,7
			Blutkörperchen	2,8	1,5	1,3
				(2,2)	(1,6)	(0,6)
1 g × 6	2–3 Std.	44	Blut	4,1	2,8	1,3
			Plasma	7,1	5,0	2,1
			Blutkörperchen	1,9	1,4	0,5
				(0,4)	(0,1)	(0,3)

Tabelle 13 (Fortsetzung).

Eingabe pro Tag	Zeit zwischen letzter Eingabe und Blutprobe	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm		
				total	frei	azetyliert
1 g × 6	2—3 Std.	48	Blut	1,7	1,4	0,3
			Plasma	2,7	1,9	0,8
			Blutkörperchen	1,0	0,7	0,3
				(0,6)	(0,8)	(0)
1 g × 6	2—3 Std.	44	Blut	4,8	3,7	1,1
			Plasma	7,8	6,2	1,6
			Blutkörperchen	2,3	1,8	0,5
				(1,0)	(0,8)	(0,2)

Tabelle 14. Intravenöse Ulironeingabe bei Kaninchen.

Eingabe cg/kg	Zeit in Std.	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm		
				total	frei	azetyliert
8,9	$^1/_2$	27	Blut		4,5	
			Plasma		5,7	
			Blutkörperchen		(1,3)	
	$1^1/_2$	27	Blut		3,5	
			Plasma		3,7	
			Blutkörperchen		(2,9)	
	5	27	Blut		—	
			Plasma		< 1,0	
			Blutkörperchen		—	
18,8	$^1/_6$	30	Blut		24,0	
			Plasma		24,6	
			Blutkörperchen		(22,6)	
	1	30	Blut		15,1	
			Plasma		17,1	
			Blutkörperchen		(10,0)	
	5	30	Blut		3,9	
			Plasma		4,3	
			Blutkörperchen		(3,0)	

Die Tiere wurden von der Injektion nicht beeinflußt.

Tabelle 15. Perorale Ulironeingabe bei Kaninchen.

Eingabe cg/kg	Zeit in Std.	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm		
				total	frei	azetyliert
43	2	33	Blut	2,1	Spur	
			Plasma	2,4		
			Blutkörperchen	(1,5)		
106	2	34	Blut	2,0	Spur	
			Plasma	2,2		
			Blutkörperchen	(1,6)		
	4	34	Blut	2,9		
			Plasma	3,5	< 1	
			Blutkörperchen	(1,8)		
	6	34	Blut	2,3		
			Plasma	3,3	< 1	
			Blutkörperchen	1,3		
				(0,4)		

Tabelle 16. Perorale Ulironeingabe bei Menschen.

Eingabe pro Tag	Zeit nach letzter Eingabe	Hämatokrit		Gefunden mg/100 ccm		
				total	frei	azetyliert
3 g	2—3 Std.	45	Blut	4,6	1,8	2,8
			Plasma	6,6	2,4	4,2
			Blutkörperchen	2,8	1,4	1,4
				(2,2)	(1,1)	(1,1)
3 g	2—3 Std.	37	Blut	7,6	3,1	4,5
			Plasma	10,8	4,2	6,6
			Blutkörperchen	3,0	1,3	1,7
				(2,2)	(1,2)	(1,0)
3 g	2—3 Std.	32	Blut	6,1	2,9	3,2
			Plasma	8,0	3,0	5,0
			Blutkörperchen	4,0	2,7	1,3
				(2,0)	(2,7)	(—)
3 g	2—3 Std.	36	Blut	5,1	2,2	2,9
			Plasma	6,8	1,5	5,3
			Blutkörperchen	3,6	3,1	0,5
				(2,4)	(3,4)	(—)
3 g	2—3 Std.	40	Blut	6,4	2,9	3,5
			Plasma	8,8	4,0	4,8
			Blutkörperchen	3,2		
				(2,8)	(1,1)	(1,7)

Die Resultate nach Sulfanilamideingaben bei Kaninchen (Tabelle 1 und 2) zeigen, daß der Stoff sich — gleichgültig, ob intravenös oder oral zugeführt — in gleicher Weise im Blute verteilt, daß das Verteilungsgleichgewicht sich sehr schnell einstellt, und daß aber das Verhältnis zwischen freiem und azetyliertem Sulfanilamid mit fortschreitender Zeit abnimmt. In der ersten Zeit nach der Eingabe findet sich Sulfanilamid vorwiegend in freier Form, während später die azetylierte Form überwiegt. Aus Tabelle 3 (orale Zufuhr von Sulfanilamid beim Menschen) ist ersichtlich, daß die im Blute enthaltenen Sulfanilamidkonzentrationen selbst bei gleicher Sulfanilamiddosis und anscheinend gleichen Bedingungen erheblich schwanken.

Die für das Sulfanilamid gefundenen Verteilungsverhältnisse entsprechen den von Hansen gefundenen. Nach dem gleichen Verfasser soll der Quotient zwischen freiem und Total-Sulfanilamid im Blute größer sein als im Urin. In den vorliegenden Versuchen zeigte der im Urin gefundene Quotient keine Abweichung von dem im Blute vorhandenen.

Azetylsulfanilamid verteilt sich im Blute ebenso wie Sulfanilamid. Die Verteilung scheint daher die gleiche zu sein, unabhängig davon, ob die azetylierende Verbindung im Organismus gebildet oder diesem zugeführt wird. Die nach Azetylsulfanilamid erreichten Konzentrationen sind indessen nur halb so groß wie die nach entsprechender Sulfanilamideingabe erhaltenen. Da der Quotient zwischen freiem und azetyliertem Sulfanilamid im Blute und Urin praktisch gleich ist und auch die Aus-

scheidung der beiden Verbindungen nicht wesentlich voneinander abweicht, kann die niedrige Azetylsulfanilamidkonzentration im Blute wohl so erklärt werden, daß die Resorption der Azetylsulfanilamidverbindung wesentlich schwieriger ist als die des Sulfanilamids selbst. Diese Annahme erklärt auch die Beobachtung, daß, trotz großer zugeführter Dosen, das Tier nicht beeinflußt wird. Azetylsulfanilamid wird nur in geringem Grade im Organismus gespalten. In allen Fällen konnte freies Sulfanilamid nach Azetylsulfanilamideingabe im Blute gefunden werden, aber in der Regel waren die Konzentrationen zu einer quantitativen Bestimmung zu niedrig.

Die mit Azetylsulfanilamid isomere Verbindung Albucid verteilt sich auf etwa die gleiche Art im Blute wie Sulfanilamid, jedoch ist die in den Blutkörperchen vorhandene Menge relativ geringer. Nach Vonkennel und Korth[7] soll Albucid besser resorbiert werden als Sulfanilamid, so daß durch Zufuhr geringerer Mengen eine höhere Konzentration im Blute erreicht wird. In den vorliegenden Versuchen wurde gefunden, daß Sulfanilamid zu einer verhältnismäßig höheren Konzentration im Blute führt. Vonkennel und Korth und Dorhn und Diedrich[8] geben weiterhin an, daß Albucid größtenteils in unveränderter Form ausgeschieden wird. Das Verhältnis zwischen der freien und der totalen Albucidmenge im Urin wurde daher auch in den vorliegenden Versuchen bestimmt. Die freie Menge Albucid betrug in Übereinstimmung mit den im Blute gefundenen Verhältnissen nur etwa $^1/_3$ der Gesamtmenge.

Die dritte isomere Azetylverbindung, Sulfanilacetamid, verteilt sich auf gleiche Art wie Sulfanilamid und Azetylsulfanilamid im Blute. Im Gegensatz zu Albucid werden fast keine gekoppelten Verbindungen im Organismus gebildet, obwohl Sulfanilacetamid eine freie aromatische Aminogruppe enthält.

Sulfapyridin verteilt sich im Blute von Kaninchen verschieden, je nach intravenöser oder oraler Zufuhr des Stoffes. Im ersten Falle findet sich eine verhältnismäßig größere Menge des Stoffes in den Blutkörperchen. Der Unterschied ist indessen am größten für die Gesamtmengen, deren Verteilung der des Azetylsulfapyridins entspricht. Da der größte Teil der per os eingegebenen Sulfapyridinmenge sich in azetylierter Form (Tabelle 9) im Kaninchenblut findet, sieht man, daß nach intravenöser und oraler Eingabe die Verteilung nur scheinbar verschieden ist. Die beim Menschen gefundenen Verteilungsverhältnisse entsprechen dem von Marshall und Litchfield in Hundeversuchen beobachteten Verhalten. Auf Grund von Kaninchenversuchen geben Baines und Wien dagegen an, daß die Blutkörperchen kein Sulfapyridin enthalten. Wenn man aber die in den Blutkörperchen vorhandenen Konzentrationen mittels der von Baines und Wien im Totalblut und Plasma gefundenen Konzentrationen

[7] Vonkennel u. Korth: Münch. med. Wschr. **85**, 2017 (1938). — [8] Dorhn u. Diedrich: Ebenda **85**, 2018 (1938).

berechnet, erhält man Werte, die den in den vorliegenden Versuchen gefundenen entsprechen. Daß Baines und Wien bei direkter Analyse kein Sulfapyridin finden, beruht vermutlich darauf, daß das vorhandene Sulfapyridin entfernt wird, wenn die Blutkörperchen zur Beseitigung des Plasmas mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen wurden.

Azetylsulfapyridin wird ebenso wie Azetylsulfanilamid nur in geringem Grade im Organismus in die freie Verbindung gespalten. Der Unterschied in der Verteilung des Sulfapyridins und Azetylsulfapyridins im Blute wird, wie erwähnt, wahrscheinlich durch dieses Verhalten bedingt.

Sulfathiazol ist diejenige der untersuchten Verbindungen, die sich in verhältnismäßig geringster Konzentration in den Blutkörperchen findet. Nach der wässerigen Phase berechnet, enthalten diese nur $^1/_3$ soviel Sulfathiazol wie das Plasma. Die gekoppelte und die freie Verbindung verteilen sich auf gleiche Art.

Uliron: Die in Kaninchenversuchen erhaltenen Resultate zeigen, daß bei oraler Zufuhr auch recht großer Mengen nur niedrige Konzentrationen im Blute erhalten werden, was wohl dadurch bedingt ist, daß der Stoff schwierig resorbiert und größtenteils in azetylierter Form vorhanden ist. Beim Menschen wird Uliron besser resorbiert, findet sich aber hier vorwiegend in azetylierter Form.

Die Werte zeigen weiterhin, daß zwischen der Verteilung von freiem und azetyliertem Uliron ein Unterschied sein muß. Die freie Verbindung verteilt sich annähernd entsprechend der wässerigen Phase, während die azetylierte Verbindung in den Blutkörperchen in niedrigerer Konzentration vorhanden ist als im Plasma.

Allen Tabellen gemeinsam sind die großen Schwankungen der unter scheinbar gleichen Bedingungen gefundenen Konzentrationen, ein Verhalten, welches alle Untersucher, die mit quantitativer Bestimmung von Sulfanilamidverbindungen im Organismus gearbeitet haben, bemerkt haben. Die im Blute nach oraler und intravenöser Zufuhr gefundene Verteilung ist die gleiche, während die nach intravenöser und oraler Eingabe gefundenen Konzentrationen wahrscheinlich wegen variierender Resorption sehr verschieden sind. Die Verteilung im Blute geht sehr schnell vor sich. Die Art der Verteilung stimmt im Kaninchenblut und Menschenblut nicht völlig überein. Die Sulfanilamide haben im allgemeinen eine geringe Affinität zu Kaninchenblutkörperchen, ohne daß aber sonst ein prinzipieller Unterschied in der Verteilung vorhanden ist.

Die Konzentration in der wässerigen Phase.

Ein direkter Vergleich der erhaltenen Werte ist in der vorliegenden Form schwierig möglich. Vergleichbare Werte erhält man indessen, wenn auf die wässerige Phase umgerechnet wird und die Sulfanilamidkonzentrationen im Blute willkürlich = 100 gerechnet werden, während die

Tabelle 17.

Stoff		Anzahl Bestimmung	Total			Frei		
			Blut	Plasma	Blutkörp.	Blut	Plasma	Blutkörp.
Sulfanilamid	Kaninchen	6 i. v.				100	88	135
	„	3 p. o.	100	89	130	100	82	130
	Mensch	7 p. o.	100	60	189	100	74	158
Azetylsulfanilamid	Kaninchen	4 p. o.	100	91	130			
Albucid	Kaninchen	4 p. o.	100	98	110	100	96	105
	Mensch	6 p. o.	100	64	152	100	82	124
Sulfanilacetamid	Kaninchen	4 p. o.	100	87	136	100	84	140
Sulfapyridin	Kaninchen	8 i. v.	100	109	81	100	96	115
	„	3 p. o.	100	121	56	100	99	100
	Mensch	5 p. o.	100	101	108	100	95	115
Acetylsulfapyridin	Kaninchen	3 p. o.	100	125	52			
	Mensch	4 p. o.	100	108	80			
Sulfathiazol	Mensch	8 p. o.	100	135	45	100	135	45
Uliron	Kaninchen	5 i. v.				100	99	106
	„	4 p. o.	100	110	73			
	Mensch	6 p. o.	100	121	63	100	103	107

anderen Konzentrationen hiermit proportional umgerechnet werden. In Tabelle 17 sind die Durchschnittswerte dieser Berechnung wiedergegeben.

In vorstehender Tabelle sind die Sulfanilamidkonzentrationen in der wässerigen Phase des Blutes willkürlich gleich 100 gesetzt. Die Sulfanilamidkonzentrationen in der wässerigen Phase des Plasmas und in den Blutkörpern sind diesem Werte entsprechend umgerechnet.

Diese Tabelle zeigt, daß die Sulfanilamide sich im Kaninchen- und Menschenblut nicht auf die dieselbe Art verteilen. Der Unterschied in der Verteilung der verschiedenen Sulfanilamide und der Unterschied in der Verteilung bei Menschen- und Kaninchenblut wird noch deutlicher, wenn das Verhältnis zwischen der Konzentration in den Blutkörperchen und im Plasma berechnet wird.

Das Verhältnis zwischen Konzentrationen (aus der wässerigen Phase berechnet) in Blutkörperchen und Plasma:

Stoff		Kaninchen	Mensch
Sulfanilamid	total	1,5	3,1
	frei	1,6	2,1
Azetylsulfanilamid		1,4	—
Sulfanilacetamid	total	1,6	—
	frei	1,7	—
Albucid	total	1,1	2,4
	frei	1,1	1,5
Uliron	total	0,7	0,5
	frei	1,1	1,0
Sulfapyridin	total	0,6	1,1
	frei	1,1	1,2
Azetylsulfapyridin		0,4	0,7
Sulfathiazol	total	—	0,3
	frei	—	0,3

Aus dieser Übersicht geht hervor, daß die azetylierte Verbindung im Kaninchenblut die gleiche oder eine geringere Affinität zu den Blutkörperchen hat, wie die freie Verbindung. Im Menschenblut haben Azetylsulfanilamid und Albucid eine größere Affinität zu den Blutkörperchen, während Azetylsulfapyridin und Azetyluliron eine geringere Affinität haben als die entsprechenden freien Verbindungen. Azetylsulfathiazol und Sulfathiazol haben zu den Menschenblutkörperchen gleiche Affinität.

Man sieht weiterhin, daß die Sulfanilamide — außer Uliron — zu den Kaninchen-Blutkörperchen geringere Affinität haben als zu den Menschenblutkörperchen.

Über die Ursache für diese eigenartige Verteilung können diese Versuche keine Aufschlüsse geben. Die Ergebnisse — u. a. die schnelle Verteilung — deuten aber darauf hin, daß die Verteilung von einem Adsorptionsverhältnis an die Blutkörperchen bedingt ist. Die Resultate von Size, der in „in vitro"-Versuchen findet, daß abnehmende Sulfanilamidkonzentrationen relativ größere Konzentrationen in den Blutkörperchen bedingen, gehen in der gleichen Richtung.

Zusammenfassung.

Die Verteilung einer Reihe von Sulfanilamiden im Blute (Sulfanilamid, Azetylsulfanilamid, Sulfanilacetamid, Sulfapyridin, Azetylsulfapyridin, Sulfathiazol und Uliron) wurde untersucht. Die untersuchten Sulfanilamide verteilen sich im Blute nicht nach der wässerigen Phase. Aus der wässerigen Phase berechnet trat Sulfanilamid, Albucid und Sulfapyridin beim Menschen in größeren Konzentrationen in den Blutkörperchen auf als im Totalblut und Plasma, während für Azetylsulfapyridin, Uliron und Sulfathiazol geringere Konzentrationen gefunden wurden.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Neue broncholytisch hochwirksame Körper der Adrenalinreihe*.

Von

Heribert Konzett.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. August 1940.)

In den letzten Jahren sind im Laufe der systematischen Prüfung sympathicomimetischer Amine zahlreiche dieser Körper auch auf ihre broncholytische Fähigkeit untersucht worden [1, 2, 3, 4]. Dabei kam es nicht allein darauf an, die einzelnen Körper hinsichtlich ihrer Eigenschaften und Wirkungen genauer kennenzulernen, man war vielmehr bei solchen Untersuchungen auch bestrebt, Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung aufzudecken. Alle diesbezüglichen Arbeiten müssen an die grundlegenden Feststellungen von Barger und Dale[5] anknüpfen, die zum erstenmal das für eine sympathicomimetische Wirkung optimale Kohlenstoffskelett beschrieben haben. Es besteht aus einem Benzolring mit zwei phenolischen Hydroxylgruppen in 3. 4-Stellung zu einer Seitenkette, die zwei Kohlenstoffatome aufweist, von denen das endständige eine Aminogruppe trägt. Eine alkoholische Hydroxylgruppe erhöht die Wirkungsstärke. Primäre Amine erwiesen sich wirksamer als sekundäre und letztere wieder wirksamer als tertiäre.

Diese Ergebnisse waren durch Untersuchung der Wirkung auf den Blutdruck sowie an isolierten Organen gewonnen worden; sie behielten im allgemeinen ihre Gültigkeit aber auch bei Anwendung auf die uns hier besonders interessierende broncholytische Wirkung. Tainter und Mitarbeiter[1] untersuchten zunächst an der isoliert durchströmten Meerschweinchenlunge nach der Methode von Sollman-Oettingen[6] eine Reihe sympathicomimetischer Amine. Die Wirkungsstärke wurde in jedem Falle mit der von Adrenalin verglichen und dabei gefunden, daß Adrenalin der wirksamste Körper zur Lösung eines durch Pilocarpin, Histamin oder Bariumchlorid herbeigeführten Bronchialkrampfes ist. Die Autoren er-

---

* Über einige Versuchsergebnisse wurde in der Klin. Wschr. 1940, Heft 51 kurz berichtet.

[1] Tainter, M. L., J. R. Pedden u. M. James: J. Pharmacol. (Am.) **51**. 371 (1934). — [2] Pedden, J. R., M. L. Tainter u. W. M. Cameron: Ebenda **55**. 242 (1935). — [3] Cameron, W. M., u. M. L. Tainter: Ebenda **57**, 152 (1936). — [4] Kiese, M.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 342 (1935). — [5] Barger, G., u. H. H. Dale: J. Physiol. (Brit.) **41**, 19 (1910). — [6] Sollman, T., u. W. F. von Oettingen: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **25**, 692 (1928).

weiterten diese Untersuchungen unter Bedingungen, die methodisch den physiologischen Verhältnissen mehr Rechnung tragen (Beatmung von Hunden unter negativen Druck[7]) und bestätigen die außerordentliche Wirksamkeit von Adrenalin auf den Bronchialkrampf nach Arecolin und Histamin[2, 3]. Adrenalin übertraf an krampflösender Wirkung alle anderen untersuchten Amine. Zwischen der bronchialerweiternden und der blutdrucksteigernden Wirkung, die schon früher untersucht worden war, ließen sich keine konstanten Beziehungen auffinden. Hinsichtlich der chemischen Struktur wurde lediglich festgestellt, daß sich in den am stärksten krampflösenden Mitteln stets ein Benzolring mit zwei phenolischen Hydroxylgruppen findet. Diese Feststellung war nach den Befunden von Barger und Dale[5] zu erwarten. Über die Bedeutung der Seitenkette für die Wirkung auf die Bronchialmuskulatur konnten die Autoren keine Gesetzmäßigkeiten aufdecken. Das mag auch damit zusammenhängen, daß die untersuchten Verbindungen sich nicht durch bestimmte systematische Veränderungen am Molekül unterschieden, wie sie z. B. sehr übersichtlich Barger und Dale[5] vorgenommen hatten. Vielmehr finden sich bei den von Tainter und Mitarbeiter[1, 2, 3] geprüften Verbindungen in der Seitenkette und auch im Benzolring so viele verschiedene Anordnungen, daß eine einheitliche Vergleichsgrundlage vom chemischen Standpunkte nicht mehr gegeben ist. Aussichtsreicher für die weitere Aufklärung von Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung schien es uns, solche chemische Verbindungen vergleichend zu untersuchen, die sich nur durch Änderungen an einer bestimmten Stelle des Moleküls unterscheiden. Bleibt das übrige Molekülgefüge gleich, so lassen sich Änderungen der Wirkung zwanglos auf die einzige erfolgte chemische Änderung zurückführen.

Für chemische Eingriffe schien schon seit langem der am Amino-N haftende Rest geeignet. Loewi und Meyer[8] haben 1905 darauf hingewiesen, daß die am Amino-N eintretenden Gruppen nach Art und Zahl für die Eigenschaft der ganzen Verbindung von ausschlaggebenderBedeutung sind. Diese Feststellung konnte von Barger und Dale[5] bestätigt werden. Es zeigte sich, daß mit zunehmender C-Atomzahl am Amino-N die pressorische Wirksamkeit der Derivate von p-Hydroxyphenyl-Äthylamin und Brenzkatechin-Äthylamin abnahm. Bei Abkömmlingen von Brenzkatechin-Acetoamin erwies sich allerdings die durch Einführung einer Äthylgruppe am Amino-N gewonnene Verbindung wirksamer als das entsprechende Methylderivat; doch nahm auch hier die Wirksamkeit bei Einführung einer um ein C-Atom reicheren Propylgruppe dann wieder ab. Auch für Ephedrinderivate, bei denen gleichfalls an Stelle der Methylgruppe am Amino-N eine Äthyl-, Propyl-, Butyl- oder Pentylgruppe

[7] Jackson, J.: Exper. Pharmakol., 1917, C. V. Mosby Co., St. Louis. — [8] Loewi, O., u. H. Meyer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **53**, 213 (1905).

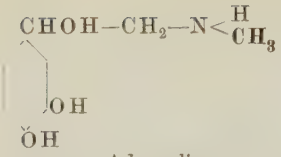
eingeführt worden war, ergab sich die Regel, daß die pressorische Wirkung mit zunehmender Zahl der C-Atome abnimmt, ja sogar in eine depressorische umschlagen kann. Auffallend war jedoch bei den Untersuchungen von Chen und Mitarbeitern[9], daß die Hemmung der Darmbewegungen am isolierten Kaninchendarm bei allen Derivaten trotz Angliederung von mehreren C-Atomen am Amino-N ungefähr in gleicher Stärke bestehen blieb. Das schien insofern bemerkenswert, als es sich hier nicht um eine fördernde, sondern um eine hemmende sympathicomimetische Wirkung handelt. Bei der Krampflösung an den Bronchien im Experiment ist der Vorgang ähnlich; es kommt auch zu einer Hemmung (in diesem Falle Dilatation) im Gegensatz zu der durch parasympathische Gifte hervorgerufenen Erregung (d. h. Konstriktion) der Bronchialmuskulatur.

Wenn sich die an Ephedrinabkömmlingen erhobenen Befunde und in weiterem Sinne die Beobachtungen von Barger und Dale[5] ähnlich auch auf Adrenalinderivate übertragen ließen und, wie eben erörtert, die Hemmungswirkungen durch Anfügen von C-Atomen am Amino-N nicht im gleichen Maße abgeschwächt würden wie die pressorische, so schien damit die Möglichkeit gegeben, durch Einführen von C-atomreicheren Alkylresten am Amino-N des Adrenalins zu Körpern zu kommen, die wohl volle broncholytische, jedoch herabgesetzte pressorische Wirksamkeit aufwiesen. Damit wäre auch einem Bedürfnis der Therapie gedient, weil die starke Blutdruckwirkung des Adrenalins seine Verwendbarkeit im akuten Asthmaanfall unter Umständen ausschließt und keines seiner weniger pressorischen Ersatzmittel eine annähernd gleich gute broncholytische Wirksamkeit hat.

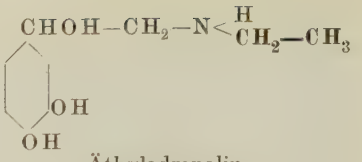
Solche Adrenalinderivate sind unseres Wissens bisher noch nicht pharmakologisch untersucht. Für die vorliegenden Versuche stand eine Reihe adrenalinähnlicher Körper zur Verfügung, die unter Leitung von Dr. Scheuing in den chemischen Laboratorien der Firma C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim, synthetisiert worden waren; sie unterscheiden sich vom Adrenalin nur durch Einführung eines anderen Radikals an der Aminogruppe, d. h. statt des Methylrestes war ein Äthyl-, Propyl-, Isopropyl-, Butyl-, Isobutylrest eingeführt. Wir gebrauchen im folgenden statt der umständlichen chemischen Namen (z. B. Äthyl-aminomethyl-3, 4-dioxyphenylcarbinol, Propyl-aminomethyl-3, 4-dioxyphenylcarbinol usw.) die einfacheren, wenn auch nicht ganz richtigen Bezeichnungen Äthyladrenalin, Propyladrenalin usw.

Alle Derivate des Adrenalins kamen als racemische Produkte in Form der Hydrochloride zur Verwendung. Bis auf Propyladrenalin, das uns in 0,5%iger Lösung übergeben wurde, lagen alle Verbindungen kristallisiert vor. Sämtliche Körper sind leicht wasserlöslich. Beim Stehen verfärben sich die Lösungen rötlich, und zwar um so stärker, je konzentrierter die

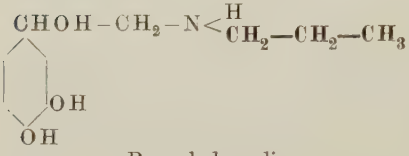
[9] Chen, K. K., Chang-Keng Wu u. E. Henriksen: J. Pharmacol. (Am.) **36**, 363 (1929).



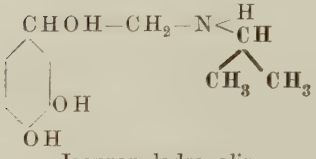
Adrenalin.



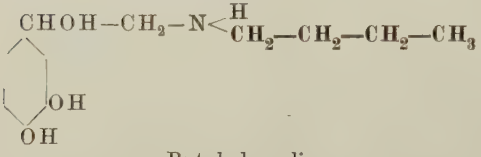
Äthyladrenalin.



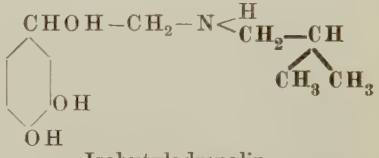
Propyladrenalin.



Isopropyladrenalin.



Butyladrenalin.



Isobutyladrenalin.

Lösungen sind, behalten aber trotzdem, soweit biologisch feststellbar, ihre volle Wirksamkeit. Ein geringer Zusatz von Weinsäure oder Ascorbinsäure verhindert die Verfärbung. Wir haben in unseren Versuchen die Substanzen nicht molar dosiert, da die Molekulargewichte nur geringfügige Abweichungen zeigten.

Methodik.

Für die Registrierung der Änderungen der Bronchialweite wurde eine Anordnung benutzt[10], die bei gleichbleibender künstlicher Beatmung und konstant gehaltenem Aufblasungsdruck indirekt das von den Lungen jeweils aufgenommene Luftvolumen verzeichnet. Eine Verengerung oder Erweiterung der Bronchien ist an dem geänderten Luftfassungsvermögen der Lungen zu erkennen.

Die Versuche wurden meist an Hunden, manchmal auch an Katzen ausgeführt. Wir haben diese Versuchstiere gewählt, weil aus neueren mikroskopischen Untersuchungen an den Bronchien von Menschen und Tieren hervorgeht, daß die Bronchiolen von Hund und Katze auf Pharmaka ähnlich reagierten wie die des Menschen[11].

Zur Erzeugung eines Bronchialkrampfes verwendeten wir meist Pilocarpin, das in der Regel einen langanhaltenden Bronchospasmus hervorrief, so daß in einem Versuch unter annähernd gleichen Bedingungen mehrere Körper vergleichend geprüft werden konnten. Blieb die Muskulatur durch krampflösende Mittel erschlafft, so gelang es meist, durch neue, eventuell höhere Pilocarpindosen wiederum eine Bronchokonstriktion auszulösen. Allerdings kamen manchmal Tiere zum Versuch, die selbst nach sehr hohen Dosen Pilocarpin keinen oder einen nur sehr schwachen Bronchialkrampf entwickelten. Einmal beobachteten wir, daß ein Hund, der am Vortage Morphin bekommen hatte, besonders gut auf Pilocarpin ansprach. Wir haben daraufhin öfters Hunde 1—2 Tage vor dem Versuch mit

[10] KONZETT, H., u. R. RÖSSLER: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 71 (1940). — [11] SOLLMAN, T., u. A. J. GILBERT: J. Pharmacol. (Am.) **61**, 272 (1937).

kleinen Morphindosen (3 mg/kg) vorbehandelt, mit dem Erfolg, daß dann der Pilocarpinbronchialkrampf auffällig stark hervortrat; doch war dies keineswegs immer der Fall. Ob es sich bei der krampfbegünstigenden Wirkung der Vorbehandlung um die dem Morphin eigene Erhöhung des Vagustonus an Hunden handelt oder um eine direkte Morphinwirkung, wie sie Swanson beschrieben hat[12], wurde nicht weiter untersucht.

Durch die intravenöse Verabreichung von Pilocarpin kommt es meistens zu einem starken, bedrohlichen Blutdruckabfall oder sogar zu einem Herzstillstand; um diese unerwünschte Pilocarpinwirkung auf den Kreislauf auszuschalten, haben wir bei den ersten Anzeichen eines starken Blutdruckabfalles das Herz mit rhythmischen Kondensatorentladungen (Apparat nach Scheminzky[13]) im Zwangsrhythmus gehalten.

Mit Arecolin erzielten wir stets nur ganz kurzdauernde Bronchokonstriktionen, die sich zur Auswertung broncholytischer Körper nicht so gut eignen. Manchmal verwendeten wir auch Histamin zur Krampfauslösung. Gelegentlich brachten wir die Bronchialmuskulatur durch elektrische Reize des Lungenvagus zur Kontraktion.

Neben den Versuchen am ganzen Tier wurden die broncholytischen Wirkungen auch an der isolierten, von einer Dale-Schuster-Pumpe mit defibriniertem Blut durchströmten Lunge von Hunden untersucht.

Den broncholytischen Effekt aller Adrenalinderivate verglichen wir immer mit dem von Adrenalin. Auf diese Weise ließ sich aus den Kurven der Grad der Wirkungsstärke sicher erkennen und durch Variation der Dosen waren auch quantitative Feststellungen möglich. Da die Adrenalinwirkung stets als Maßstab für die Wirkungsstärke galt, das Schwergewicht also auf der vergleichenden Gegenüberstellung lag, wurde darauf verzichtet, die von den Lungen aufgenommenen Luftmengen in ccm anzugeben.

Die Versuche am ganzen Tier verliefen in folgender Weise:

In Morphin (8 mg/kg) — Chloralose (8 cg/kg) — Narkose wurde tracheotomiert, eine Kanüle mit drei Ansätzen in die Luftröhre eingebunden und mit der künstlichen Atmung begonnen. Nach Präparation einer Art. Carotis für die Blutdruckmessung und der beiden Nervi Vagi für die spätere Durchtrennung wurde der Brustkorb in der Mittellinie geöffnet und die beiden Brustwände mit Hacken so weit auseinandergezogen, daß sich die Lungen unbehindert ausdehnen konnten. Über der rechten Herzkammer machten wir an zwei Stellen kleine Einschnitte in den Herzbeutel, um die Elektroden für die rhythmische Reizung am Herzmuskel anbringen zu können. Hierauf wurde der zur Registrieranordnung abzweigende Weg der Trachealkanüle (s. bei [10]) geöffnet, das Atemvolumen der Starling-Pumpe sowie die Höhe des maximalen Aufblasungsdruckes mittels der Wassersäule im Überdruckventil endgültig eingestellt und mit der Registrierung auf dem Kymographion begonnen. Dann wurde, meist nach Durchschneidung der Nervi Vagi, eines der krampferzeugenden Mittel intravenös (Vena femoralis) verabreicht.

Bei Versuchen an der isoliert-durchströmten Lunge gingen wir so vor: Nach Einleiten der künstlichen Atmung und Eröffnung des Brustkorbs wurde durch einen Einschnitt in die rechte Herzkammer eine Kanüle, die mit einer Dale-Schuster-Pumpe verbunden und mit Blut gefüllt war, in die Art. Pulmonalis eingeführt, eine zweite Kanüle in den linken Vorhof eingebunden und das Herz an der Vorhof-Kammergrenze fest abgeschnürt. Das von der Pumpe durch die Lunge getriebene Blut floß durch die Kanüle im linken Vorhof über ein kleines Vorratsgefäß zur Pumpe zurück. Alle Substanzen wurden in die Zuleitung zu den Lungen injiziert. Obwohl

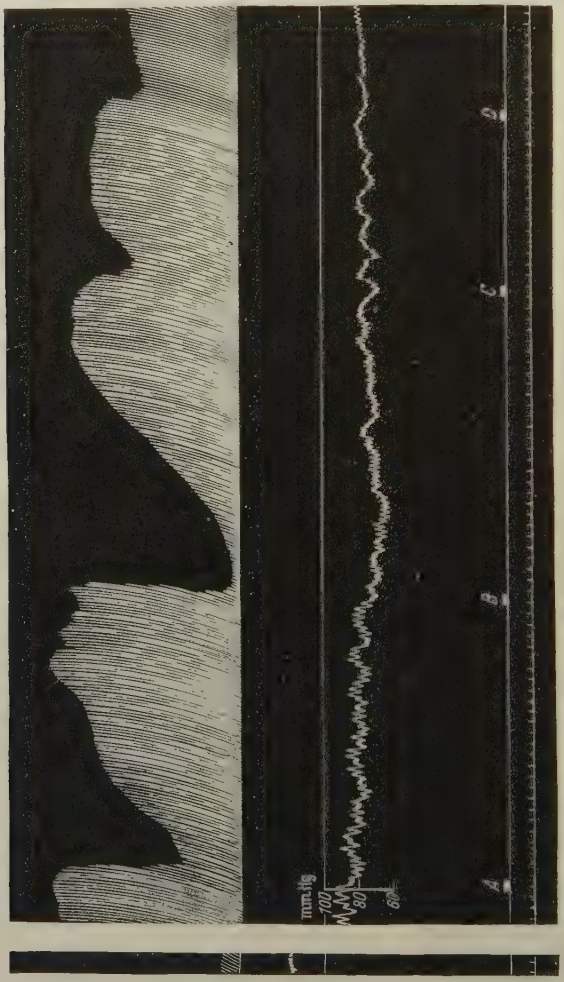
[12] Swanson, E. E.: J. Pharmacol. (Am.) **36**, 541 (1929). — [13] Scheminzky, F.: Pflügers Arch. **225**, 303 (1930).

das defibrinierte Blut an sich stets bronchokonstriktorisch wirkte[14], erzeugten wir meist mit Pilocarpin einen zusätzlichen Krampf.

Versuchsergebnisse.

Äthyl-Adrenalin.

Schon der erste Versuch mit diesem Körper zeigte, daß er in der krampflösenden Wirkung auf die Bronchialmuskeln sogar Adrenalin



Für alle Abbildungen gilt: Versuche an Hunden in Morphin (8 mg/kg)-Chloralose (80 mg/kg)-Narkose. Obere Kurve: Das von den Lungen nicht aufgenommene Atemvolumen mit einem Pistonrecorder verzeichnet. Kleinerwerden der Ausschläge bedeutet: Lösung; Größerwerden: neuerliche Zunahme des Bronchialkrampfes. Untere Kurve: Blutdruck in der Art. carotis oder femoralis mit Quecksilbermanometer registriert. Zeitmarken: 10 Sekunden. Injektionen intravenös.

Abb. 1. Hund, 10 kg. Maximaler Aufblasungsdruck 120 mm H_2O, Beatmungsfrequenz 23/Min. Gleiche Mengen (5 γ) von Äthyladrenalin (*A*), Isopropyladrenalin (*B*), Adrenalin (*C*) und Propyladrenalin (*D*) sind an einem Bronchialkrampf nach 6 mg Pilocarpin ausgewertet. I. Kurvenabschnitt vor Pilocarpin. Die Überlegenheit von Äthyladrenalin (*A*) und besonders von Isopropyladrenalin (*B*) über Adrenalin (*C*) und Propyladrenalin (*D*) ist augenfällig.

übertraf. Damit war der erste adrenalinähnliche Körper gefunden, der broncholytisch dem bisher wirkungsvollsten Mittel, dem Adrenalin, überlegen ist. Abb. 1, welche auch die Wirkung von Propyl- und Isopropyl-

[14] Tiefensee, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **139**, 129 (1929).

adrenalin, auf die wir später zurückkommen, wiedergibt, läßt die Überlegenheit von Äthyladrenalin deutlich erkennen. Der Kurvenabschnitt I stammt aus dem Beginn des Versuches vor der ersten Pilocarpingabe, der Kurvenabschnitt II aus dem gleichen Versuch, nachdem dreimal je 2 mg Pilocarpin gegeben worden waren. 5 γ Äthyladrenalin (bei Berechnung auf das Gewicht des Versuchstieres 0,5 γ/kg) hatten einen ausgezeichneten Einfluß auf diesen mittelstarken Bronchialkrampf. Am Blutdruck sehen wir eine geringe Senkung (s. Abb. 1 bei *A*). 5 γ Adrenalin (bei *C*) zeigen ebenfalls eine krampflösende Wirkung, allerdings in viel schwächerem Ausmaß als Äthyladrenalin.

In ähnlicher Weise ließen sich auch ein Histaminspasmus und ein durch elektrische Lungen-Vagusreizung erzeugter Krampf günstig beeinflussen. An der isolierten Lunge waren mit Äthyladrenalin grundsätzlich gleiche Befunde zu erheben wie am Ganztier.

Propyl-Adrenalin.

Die broncholytische Wirksamkeit dieser Verbindung entspricht etwa der von Adrenalin. In Abb. 1 haben 5 γ Propyladrenalin bei *D* einen

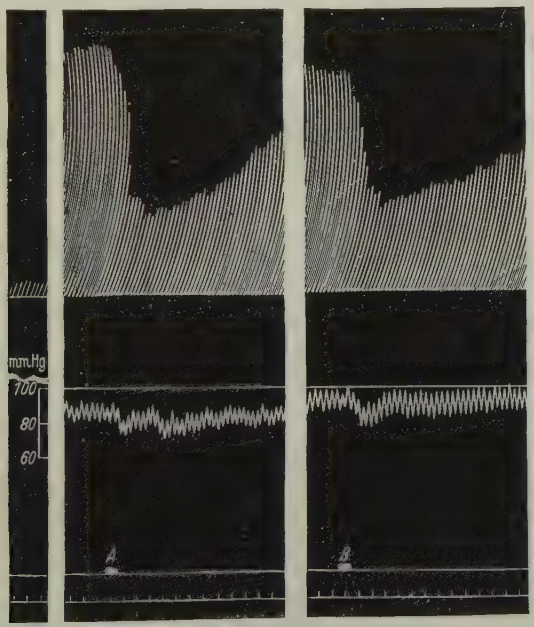


Abb. 2. Hund, 15 kg. Maximaler Aufblasungsdruck 120 mm H_2O. Beatmungsfrequenz 21/Min. 50 γ Äthyladrenalin (*A*) erschlaffen die durch Pilocarpingaben (5 mg) kontrahierte Bronchialmuskulatur ungefähr gleich stark wie 100 γ Propyladrenalin (*B*).

ungefähr gleich starken Erfolg auf den Bronchialkrampf wie 5 γ Adrenalin bei *C*. Verglichen mit Äthyladrenalin war die Krampflösung stets schwächer;

zur Erreichung des gleichen Effektes mußte etwas mehr als die doppelte Dosis Propyladrenalin gegeben werden (s. Abb. 2). An der Blutdruckkurve zeigte sich eine geringe Senkung.

Abb. 3. Hund, 13,5 kg. Maximaler Aufblasungsdruck 110 mm H_2O, Beatmungsfrequenz 22/Min. Bei *A* 60 γ Adrenalin, bei *B* 6 γ Isopropyladrenalin. Beachte: Für die gleiche bronchodylatische Wirkung ist eine 10fach höhere Adrenalindosis erforderlich. Adrenalin ergibt eine beträchtliche Blutdrucksteigerung, Isopropyladrenalin läßt den Blutdruck unverändert.

Isopropyl-Adrenalin.

Wenn man die Propylgruppe nicht als primäres Radikal (wie bei Propyladrenalin), sondern als sekundäres Radikal an den Stickstoff der Aminogruppe anfügt, so entsteht das Isopropyladrenalin, das bei gleicher Summenformel sich vom Propyladrenalin nur durch die Anordnung der C-Atome im Radikal unterscheidet. Durch diesen chemischen Eingriff in die Struktur des Körpers erfährt auch die Wirkung eine auffällige Veränderung. Die broncholytische Wirksamkeit hat sehr stark zugenommen. Isopropyladrenalin übertrifft darin nicht nur Adrenalin, sondern auch

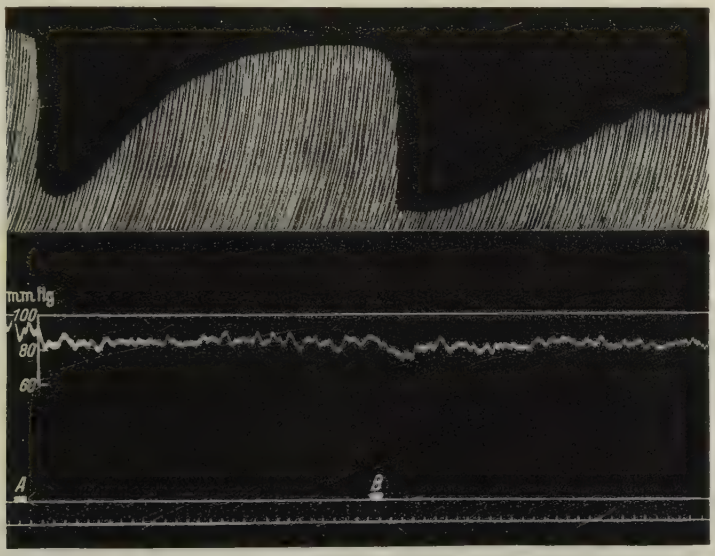


Abb. 4. Hund, 10 kg. Maximaler Aufblasungsdruck 120 mm H_2O, Beatmungsfrequenz 22/Min. 10 γ Isopropyladrenalin (*B*) übertreffen 30 γ Äthyladrenalin (*A*) sowohl hinsichtlich Intensität wie Dauer der broncholytischen Wirkung.

Äthyladrenalin erheblich. Das geht schon aus Abb. 1 hervor, in der gleiche Dosen dieser Körper miteinander verglichen sind. 5 γ Isopropyladrenalin bewirken dort eine so hochgradige Erschlaffung der Bronchialmuskulatur, wie sie nicht einmal zu Beginn des Versuches vor der Pilocarpingabe bestanden hatte (vgl. Abschnitt I der Abb. 1 mit dem Erfolg von 5 γ Isopropyladrenalin in *B*). Bei einer quantitativen Auswertung ergibt sich, daß Isopropyladrenalin in bezug auf die Bronchodilatation etwa 10mal stärker als Adrenalin und 3mal stärker als Äthyladrenalin wirkt, d. h. für gleiche Effekte sind 10fach höhere Adrenalindosen und 3fach höhere Äthyladrenalindosen erforderlich (s. Abb. 3 und 4). Dieses Wirkungsverhältnis ließ sich an verschiedenen Versuchstieren immer wieder feststellen.

Isopropyladrenalin entfaltete seine broncholytische Wirkung auch bei wiederholter Anwendung stets im gleichen Ausmaß ohne Abschwächung und war auch dann noch wirksam, wenn hohe Adrenalindosen keinen Erfolg mehr hatten. Ähnlich wie der Pilocarpinspasmus ließen sich auch der Histamin- bzw. der durch elektrische Lungen-Vagusreizung ausgelöste Brochialkrampf günstig beeinflussen. Die Ergebnisse am Ganztier stimmten im wesentlichen mit denen an isolierten Lungen überein. Auf den Blutdruck wirkt Isopropyladrenalin senkend.

Die hervorragende Wirkung von Isopropyladrenalin auf den Bronchialkrampf veranlaßte uns, diese Verbindung auch noch auf anderem Wege zu erproben. Der Bronchialmuskelkrampf spielt bekanntlich bei der Histaminvergiftung von Meerschweinchen eine besondere Rolle; er beherrscht das Vergiftungsbild und führt schließlich zum Tode. Es war nun naheliegend zu untersuchen, ob Isopropyladrenalin geeignet wäre, einen Histaminbronchospasmus an nicht-narkotisierten Meerschweinchen zu beeinflussen. Wir injizierten zu diesem Zweck Meerschweinchen Isopropyladrenalin (1 mg/kg) subcutan 20—30 Minuten vor Verabreichung einer mittleren letalen Histamindosis (7,5 mg/kg in Übereinstimmung mit Lendle[15]). Manchmal erhielten die Tiere nach Auftreten der ersten Histaminvergiftungserscheinungen nochmals Isopropyladrenalin. Durch diese Vorbehandlung konnten alle Tiere vor der sonst tödlichen Histaminvergiftung geschützt und sogar um 30% höhere Dosen Histamin (10 mg/kg) in den meisten Fällen noch erträglich gemacht werden. Unvorbehandelt gingen die gleichen Tiere an den gleichen Histamindosen in späteren Versuchen zugrunde.

Butyl-Adrenalin.

Mit der Anführung eines Butylrestes an den Stickstoff der Aminogruppe im Adrenalinmolekül verändert sich die broncholytische Wirkung nicht sehr; Abb. 5 zeigt, daß 50 γ Butyladrenalin in *B* ungefähr die gleiche Bronchialerweiterung bewirken wie 50 γ Adrenalin in *A*. Der Blutdruck wird entweder nicht beeinflußt oder gesenkt.

Isobutyl-Adrenalin.

Die erschlaffende Wirkung auf die kontrahierte Bronchialmuskulatur ist bei Isobutyladrenalin nur in viel geringerem Ausmaß vorhanden als bei allen beschriebenen Körpern. Die broncholytische Schwellendosis lag bei etwa 500 γ, es ist also mindestens 100mal schwächer wirksam als Isopropyladrenalin. Normal-Butyladrenalin ist diesem Derivat ungefähr 10fach überlegen.

Besprechung der Ergebnisse.

Wenn man am Adrenalinmolekül an Stelle des Methylrestes am Amino-N einen anderen Alkylrest einführt, kann die broncholytische

[15] Lendle, L.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 371 (1937).

Wirksamkeit eine Veränderung erfahren. Das ist z. B. der Fall bei Einführung einer Äthylgruppe. Dadurch wird die krampflösende Wirkung etwa um das 2- bis 3fache gesteigert. Wird eine Normalpropylgruppe an der erwähnten Stelle eingesetzt, so bleibt die Wirkung ungefähr gleich wie bei Adrenalin. Führt man aber statt einer Normalpropylgruppe eine Isopropylgruppe ein, so nimmt dadurch die bronchodilatatorische Fähigkeit außerordentlich zu; ein gleicher Effekt ist erst mit etwa 10fach höheren

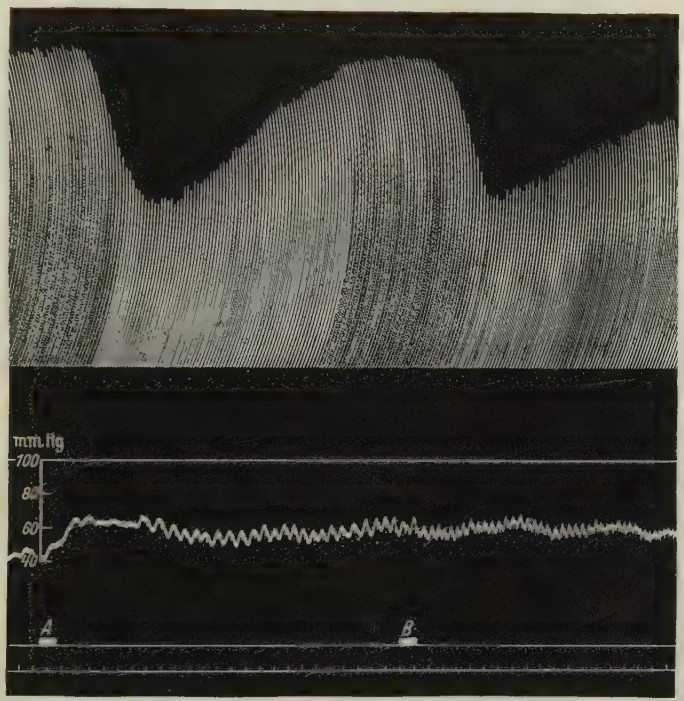


Abb. 5. Hund, 10 kg. Maximaler Aufblasungsdruck 115 mm H_2O, Beatmungsfrequenz 28/Min. Wirkung gleicher Mengen (50 γ) Adrenalin (*A*) und Butyladrenalin (*B*) auf einen starken Bronchialkrampf nach 7 mg Pilocarpin. Beide Körper sind annähernd gleich wirksam.

Adrenalindosen zu erzielen. Butyladrenalin, dessen Alkylrest am Amino-N gegenüber Propyl- und Isopropyladrenalin um ein Kohlenstoffatom verlängert ist, hat wiederum eine gleich starke Wirkung wie Adrenalin. Die Einführung eines Isobutylradikals führt zu einer Wirkungsabnahme.

Vergleicht man nun alle untersuchten Amine unter dem Gesichtspunkt der broncholytischen Wirkungsstärke, so ergibt sich eine Reihe, die vom höchstwirksamen Isopropyladrenalin über Äthyladrenalin zu den ungefähr gleich wirksamen Körpern Adrenalin, Propyladrenalin, Butyladrenalin und schließlich zu dem nur schwach wirksamen Isobutyladrenalin führt. Auf Grund dieser Tatsachen läßt sich jedenfalls keine einheitliche Regel

über die Bedeutung der Zahl der C-Atome am Amino-N für die broncholytische Wirksamkeit aufstellen. Die Zahl der C-Atome am Amino-N scheint für die hier untersuchte Bronchialwirkung weniger Bedeutung zu haben als deren Anordnung im Molekül. Das zeigt deutlich der Vergleich zwischen Propyl- und Isopropyladrenalin sowie zwischen Butyl- und Isobutyladrenalin, deren Wirkungsunterschied jeweils 1 : 10 beträgt.

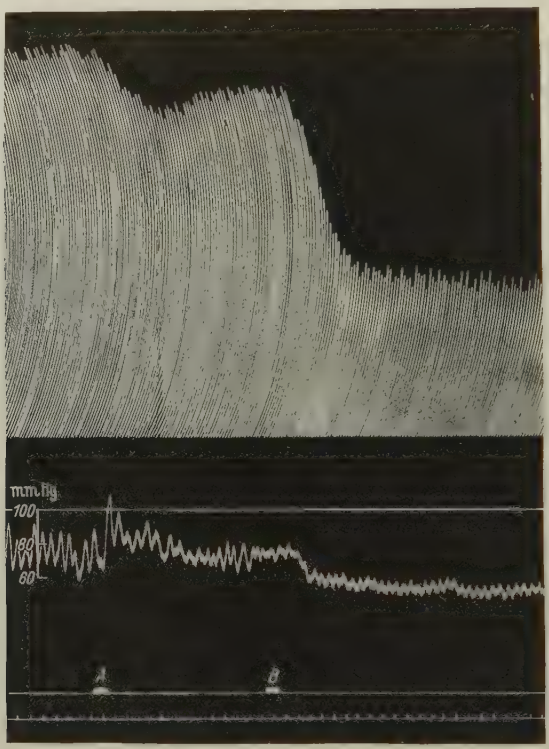


Abb. 6. Hund, 9 kg. Maximaler Aufblasungsdruck 105 mm H_2O, Beatmungsfrequenz 27/Min. Bei *A* werden 5 mg Sympatol, bei *B* 5 mg „Isopropylsympatol" verabreicht. Die Überlegenheit von „Isopropylsympatol" hinsichtlich krampflösender Wirksamkeit auf den Bronchospasmus nach 9 mg Pilocarpin tritt deutlich hervor.

Unter den angeführten Körpern nimmt Isopropyladrenalin wegen seiner überragenden Wirkung eine besondere Stelle ein. Die außerordentliche Wirksamkeit dieser Verbindung ließ die Vermutung aufkommen, es könnte der Isopropylgruppe über den hier angeführten Einzelfall hinaus eine besondere Fähigkeit in bezug auf die Erschlaffung der kontrahierten Bronchialmuskulatur zukommen. Sollte diese Annahme richtig sein, so mußte die Einführung einer Isopropylgruppe außer bei Adrenalin auch bei anderen ähnlichen Körpern deren broncholytische Wirkung verstärken. Zu diesem Zweck untersuchten wir hinsichtlich der Bronchialwirkung Sympatol und Adrianol vergleichend mit „Isopropylsympatol" und „Iso-

propyladrianol", wobei die Isopropylgruppe auch in diesen Verbindungen am Amino-N an Stelle der Methylgruppe eingeführt worden war*.

Sympatol entfaltet im Vergleich zu Adrenalin erst in 100—200mal höheren Dosen eine krampflösende Wirkung auf die kontrahierte Bronchialmuskulatur[4, 16]. Wir haben auf einen sehr starken Bronchialkrampf nach 9 mg Pilocarpin 5 mg Sympatol einwirken lassen (s. Abb. 6 bei *A*), die eben eine geringe Erschlaffung bewirkten. Daraufhin gaben wir 5 mg „Isopropylsympatol" (bei *B*); es kam zu einer ausgiebigen und anhaltenden Bronchodilatation. Die Gegenüberstellung beider Wirkungen zeigt deutlich den großen Unterschied. Daß die Isopropylgruppe die erhöhte Wirkung bedingt, geht eindeutig daraus hervor, daß die Einführung eines Propylrestes als primäres Radikal (wir können diese Verbindung analog den Bezeichnungen bei den Adrenalinderivaten „Propylsympatol" nennen) die broncholytische Wirkung von Sympatol keineswegs verstärkt.

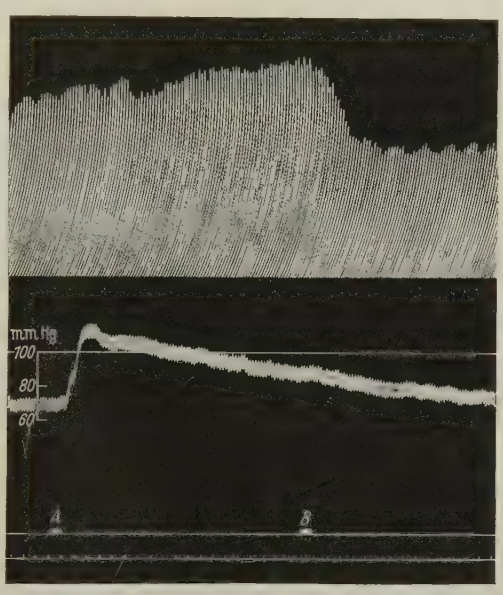


Abb. 7. Hund, 14,5 kg. Maximaler Aufblasungsdruck 100 mm H_2O, Beatmungsfrequenz 27/Min. 500 γ Adrianol (*A*) bewirken keine Lösung des Bronchialkrampfes nach 11 mg Pilocarpin, 500 γ „Isopropylsympatol" (*B*) dagegen wirken broncholytisch.

Die Bedeutung der Isopropylgruppe für die broncholytische Wirkung ging endlich auch aus dem Vergleich zwischen Adrianol und „Isopropyladrianol" hervor. An einem mittelschweren Bronchialkrampf prüften wir zunächst die Wirkung von 500 γ Adrianol[17]. Diese Dosis war unterschwellig und bewirkte keine Bronchodilatation, der Krampf nahm im Gegenteil noch zu (s. Abb. 7 bei *A*). Eine gleiche Dosis „Isopropyladrianol" war jedoch imstande, eine deutliche Erschlaffung der Bronchialmuskulatur auszulösen (bei *B*).

Auch hier ist wiederum die Isopropylgruppe von besonderer Wichtigkeit, da „Propyladrianol" gegenüber Adrianol keine erhöhte Bronchialwirkung hat.

* Diese Körper wurden uns auf Wunsch ebenfalls von der Firma C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim, zur Verfügung gestellt.

[16] Kuschinsky, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **156**, 290 (1930). — [17] Kuschinsky, G., u. K. Oberdisse: Ebenda **162**, 46 (1931).

Diese Beispiele bestätigen unsere Annahme, daß der am Amino-N angefügten Isopropylgruppe bei sympathicomimetischen Aminen der Äthanolbrenzkatechin- bzw. der Äthanoloxyphenylreihe eine besondere Bedeutung für deren broncholytische Wirkung zukommt. Wir möchten deshalb die Isopropylgruppe als „broncholysophore" Gruppe bezeichnen*.

Über die Wirkung der hier beschriebenen sympathicomimetischen Amine auf Herz und Gefäße sowie auf isolierte Organe berichten wir in der folgenden Veröffentlichung.

Zusammenfassung.

Die broncholytische Wirksamkeit einiger Adrenalinderivate, die an Stelle des Methylrestes am Amino-N einen Äthyl-, Propyl-, Isopropyl-, Butyl-, Isobutylrest hatten, wurde vergleichend mit Adrenalin untersucht. Isopropyladrenalin erwies sich 10fach, Äthyladrenalin 3fach wirksamer als Adrenalin; Propyl- und Butyladrenalin waren ungefähr gleich wirksam wie Adrenalin, Isobutyladrenalin 10mal schwächer wirksam als dieses.

Für die broncholytische Fähigkeit der untersuchten Körper scheint die Anordnung der C-Atome in dem an den Amino-N angefügten Alkylrest von besonderer Bedeutung zu sein, da Isopropyladrenalin wesentlich stärker als Propyladrenalin, und Isobutyladrenalin schwächer als Butyladrenalin wirkt. Durch die Einführung einer Isopropylgruppe an Stelle des Methylrestes am Amino-N werden nicht nur Adrenalin, sondern auch Sympatol und Adrianol in ihrer broncholytischen Wirkung auffällig verstärkt. Die Isopropylgruppe wird daher mit der vorläufigen Beschränkung auf Amine der Äthanolbrenzkatechin- und Äthanoloxyphenylreihe als „broncholysophore" Gruppe bezeichnet.

* Eine Erweiterung dieser Untersuchungen durch Einbeziehung entsprechender Ephedrinderivate ist in Aussicht genommen. Einige Versuche in dieser Richtung haben bisher ergeben, daß nach Einführung einer Isopropylgruppe am Amino-N des Ephedrin der broncholytische Effekt aufgehoben ist und eine Bronchokonstriktion zustande kommt. Die Bezeichnung der Isopropylgruppe als „broncholysophore" Gruppe gilt daher vorerst nur für die sympathicomimetischen Amine der Äthanolbrenzkatechin- und der Äthanoloxyphenylreihe.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Zur Pharmakologie neuer adrenalinverwandter Körper.

Von

Heribert Konzett.

Mit 13 Textabbildungen (23 Einzelbildern).

(Eingegangen am 14. August 1940.)

In einer vorhergehenden Veröffentlichung wurde über die starke broncholytische Wirksamkeit einiger neuer adrenalinverwandter Körper berichtet[1]. Es handelt sich um Adrenalinderivate, die jeweils an Stelle der Methylgruppe am Aminostickstoff einen Äthyl-, Propyl-, Isopropyl-, Butyl- oder Isobutylrest tragen (s. Formelbilder vorhergehender Arbeit S. 30). Der Einfachheit halber sind diese Körper auch im folgenden als Äthyl-, Propyl-, Isopropyl-, Butyl-, Isobutyladrenalin bezeichnet, um die langen chemischen Namen, wie z. B. Methylaminomethyl-3, 4-dioxyphenylcarbinol, Äthylaminomethyl-3, 4-dioxyphenylcarbinol zu vermeiden. Unter diesen Verbindungen fiel Isopropyladrenalin durch seine hervorragend broncholytische Wirkung besonders auf; es übertraf darin Adrenalin um das 10fache. Äthyladrenalin erwies sich etwa 3mal wirksamer als Adrenalin, während Propyl- und Butyladrenalin ungefähr gleich wirksam waren wie Adrenalin. Isobutyladrenalin war an krampflösender Wirkung dem Adrenalin unterlegen.

Es schien nun schon im Hinblick auf die Bedeutung, die solche Körper für die Therapie des Asthma bronchiale erlangen können, wünschenswert, sie auch hinsichtlich ihrer übrigen Wirkungen genauer kennen zu lernen. Besondere Beachtung erforderten die Kreislaufwirkungen. Außerdem waren zur Kennzeichnung dieser Adrenalinderivate Untersuchungen an isolierten Organen und Toxizitätsbestimmungen notwendig. Über die Analyse des einzelnen Körpers hinaus vermögen solche Versuche gewisse Einblicke in die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung zu geben.

Blutdruckwirkung.

Die Versuche wurden meist an dekapitierten Katzen, seltener an Katzen in Urethan (0,25 g/kg)-Chloralose (0,1 g/kg)-Narkose vorgenommen. Den Blutdruck registrierten wir mit einem Hg-Manometer in der Art. femoralis.

Äthyladrenalin bewirkt in kleinen Dosen (2—30 γ/kg) einen Blutdruckabfall. Bei Steigerung der Dosen schlägt die Blutdrucksenkung in eine Blutdrucksteigerung um. Aus Abb. 1 ist ersichtlich, daß 10 und 30 γ

[1] Konzett, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **127**, 27 (1940).

den Blutdruck senken. 100 γ lösen schon eine Blutdrucksteigerung aus, wobei allerdings anschließend noch ein Blutdruckabfall bemerkbar ist. 300 γ wirken rein pressorisch und erhöhen den Blutdruck ungefähr gleich stark wie 15 γ Adrenalin. Wurden nun noch einmal die gleichen Dosen verabreicht, die anfänglich den Blutdruck gesenkt hatten, so lösten sie jetzt, nachdem eine größere Dosis Äthyladrenalin pressorisch wirksam gewesen war, nicht mehr einen Blutdruckabfall, sondern ebenfalls eine

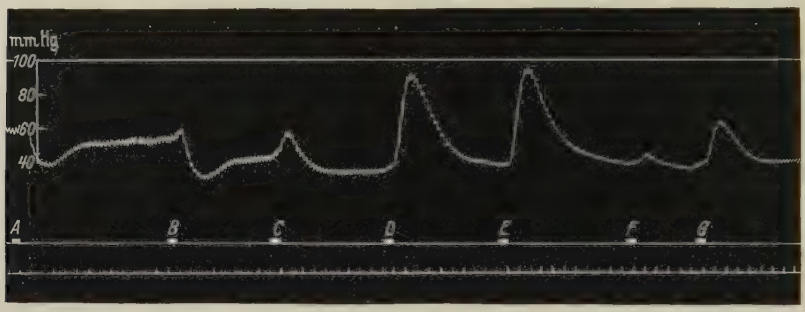


Abb. 1. Katze, 2.5 kg. In Äthernarkose dekapitiert. Blutdruckregistrierung mit Quecksilbermanometer aus der Arteria femor. Zeitschreibung: 10 Sekunden. Alle Injektionen intravenös. *A*: 10 γ, *B*: 30 γ, *C*: 100 γ, *D*: 300 γ Äthyladrenalin. Zum Vergleich bei *E* 15 γ Adrenalin. Bei *F* bzw. *G* nochmals 30 bzw. 100 γ Äthyladrenalin.

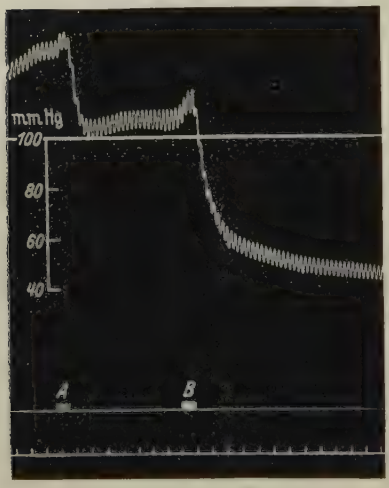


Abb. 2. Katze von Versuch Abb. 1 nach 3 mg Gynergen intravenös. *A*: 100 γ Adrenalin i. v. *B*: 1 mg Äthyladrenalin i. v.

Blutdrucksteigerung aus. Werden gleich zu Beginn hohe Dosen verabreicht (z. B. 1 mg), so tritt nur die blutdrucksteigernde Wirkung hervor. Es läßt sich demnach sagen, daß große Dosen Äthyladrenalin stets blutdrucksteigernd, kleine Dosen anfänglich blutdrucksenkend und nach größeren Dosen ebenfalls blutdrucksteigernd wirken.

Im Vergleich zu Adrenalin wirkt Äthyladrenalin pressorisch schwächer. Das Wirkungsverhältnis ist etwa 1 : 20—30, d. h. Äthyladrenalin wirkt erst in 20—30fach höheren Dosen gleich blutdrucksteigernd wie Adrenalin (s. Abb. 1). Das Kurvenbild einer Blutdrucksteigerung nach Äthyladrenalin erinnert an die Adrenalinblutdruckkurve. Druckanstieg und Druckabfall erfolgen rasch und es kommt auch bei wiederholter Injektion nicht zu einer Abschwächung der pressorischen Wirkung.

Die adrenalinähnliche Wirkungsweise zeigt sich auch in der Beeinflußbarkeit durch Ergotamin bzw. Cocain. Äthyladrenalin führt nach

Ergotamin immer zu einer Blutdrucksenkung, es kommt also zu einer „Umkehr"-Reaktion (s. Abb. 2).

Auffällig in diesen Versuchen war, daß der Blutdruck durch Äthyladrenalin viel anhaltender gesenkt wurde als durch Adrenalin. Durch Cocainvorbehandlung wird die Äthyladrenalin-Blutdrucksteigerung verstärkt (s. Abb. 3).

Propyl- und Isopropyladrenalin senkten stets den Blutdruck. Diese Wirkung nimmt mit steigernder Dosis zu und ist immer wieder

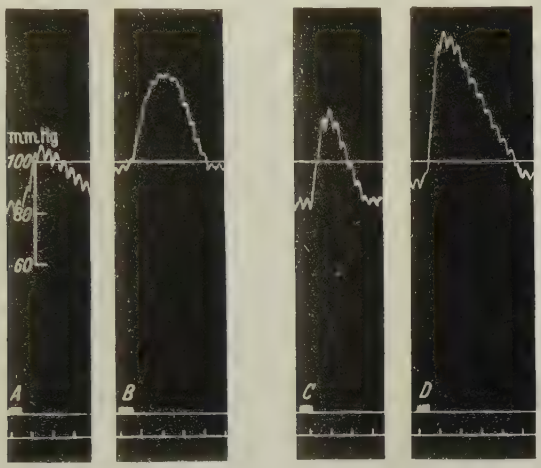


Abb. 3. Katze, 3,5 kg. Versuchsanordnung wie in Abb. 1. Blutdruckwirkung von Adrenalin und Äthyladrenalin vor und nach Cocain. *A* und *B*: je 2 γ Adrenalin; *C* und *D*: je 150 γ Äthyladrenalin. Zwischen *A* und *B* bzw. *C* und *D* wurden 10 mg Cocain intravenös gegeben.

auszulösen. Das gleiche gilt für Butyl- und Isobutyladrenalin. Vergleicht man den Grad der durch diese vier Körper bedingten Blutdrucksenkung, so sind keine besonders auffälligen Unterschiede bemerkbar; doch hat es den Anschein, als ob Isopropyl- bzw. Butyladrenalin stärker blutdrucksenkend wären als Propyl- bzw. Isobutyladrenalin. Durch Kombination mit gefäßverengenden Stoffen wie Adrenalin, Adrianol und Sympatol ließ sich die depressorische Wirkung ausgleichen. So konnte die Blutdrucksenkung nach 20 γ Isopropyladrenalin i. v. durch einen Zusatz von 20 γ Adrenalin oder 100 γ Adrianol oder 4 mg Sympatol in der Mischspritze weitgehend verhindert werden. Diese Beobachtungen fanden wir auch am nicht-narkotisierten Tier bestätigt. Direkte Blutdruckmessung durch Punktion der Art. femoralis an Hunden ergab, daß intramuskuläre oder subcutane Gaben von Isopropyladrenalin zu einer Blutdrucksenkung führten. Wurde dieselbe Menge mit einem entsprechenden Zusatz einer pressorisch wirksamen Substanz wie Sympatol verabreicht, so war der Blutdruckabfall sehr abgeschwächt. Auch an Kaninchen, deren eine

Arteria carotis zur Blutdruckmessung nach der Methode von van Leersum[2] in eine Hautfalte eingenäht worden war, zeigte sich, daß eine Zugabe von 100 mg Sympatol zu 2 mg Isopropyladrenalin in der Mischspritze die Blutdrucksenkung meistens aufhob.

Eine eingehendere Analyse der Blutdruckänderungen durch Isopropyladrenalin mit Hilfe des optisch registrierenden Federmanometers nach O. Frank an nicht narkotisierten Hunden ergab gleichfalls eine Senkung des arteriellen Mitteldruckes*. Die Kurven zeigen sowohl Abnahme des diastolischen wie systolischen Druckes bei nur wenig veränderten Amplituden. Daraus kann bei der starken Zunahme der Pulsfrequenz mit Wahrscheinlichkeit auf eine Erhöhung des Minutenvolumens geschlossen werden.

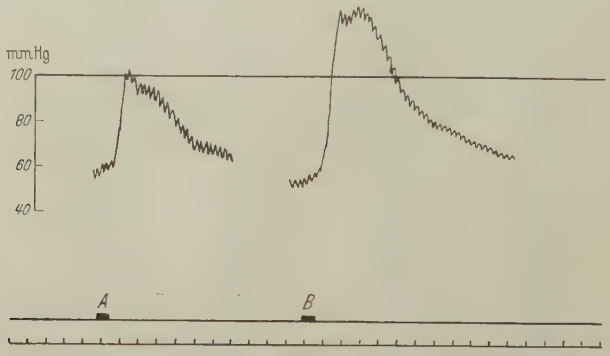


Abb. 4. Katze, 3,4 kg. Versuchsanordnung wie in Abb. 1. Verstärkung der Adrenalinwirkung durch Propyladrenalin. Die Blutdruckwirkung von 10 γ Adrenalin (*A*) ist nach intravenöser Verabreichung von Propyladrenalin (160 γ) bedeutend stärker (*B*).

Der Blutdruckabfall nach Isopropyladrenalin trat in gleichem Ausmaß sowohl nach intravenöser als auch intraaortaler Injektion auf, nur setzte die Wirkung im letzten Falle früher ein.

Eine Besonderheit zeigte Propyladrenalin, das die Blutdruckwirkung von Adrenalin verstärkte (s. Abb. 4).

Aus den Versuchen an der dekapitierten Katze, aus dem Vergleich der Wirkung nach intravenöser und intraaortaler Injektion sowie aus der Beeinflussung der Blutdrucksenkung durch gleichzeitig gegebene vasokonstriktorische Körper geht hervor, daß die Blutdruckwirkung vor allem durch periphere Gefäßwirkung bedingt ist. In diesem Sinne sprechen auch die Ergebnisse der Darmonkometrie.

Wir registrierten an Katzen in Urethan-Chloralosenarkose die Volumänderung einiger Dünndarmschlingen und gleichzeitig den Blutdruck.

[2] Leersum, E. C. van: Pflügers Arch. **142**, 377 (1911).

* Die Druckregistrierung erfolgte in der linken Arteria carotis, die zu diesem Zweck am Vortage in Äthernarkose vor die Haut gelagert und mit einem Salbenverband geschützt worden war. Über die Ergebnisse dieser auch auf andere kreislaufwirksame Substanzen ausgedehnten Versuche, die gemeinsam mit Dr. Rudolf Knebel durchgeführt wurden, soll später noch ausführlich berichtet werden.

Wie Abb. 5 zeigt, kommt es nach kleinen intravenösen Gaben von Äthyladrenalin (100 γ in *B*) zu einer Zunahme des Darmvolumens, während der Blutdruck sinkt. Nach größeren Dosen (1 mg in *C*) ist die Wirkung, wie schon in Blutdruckversuchen festgestellt, umgekehrt: der Druck steigt an und das Darmvolumen nimmt ab; anschließend folgt dann eine beträchtliche Zunahme des Darmvolumens, ein Kurvenverlauf, den man bekanntlich auch nach Adrenalin beobachtet. Da die Richtung der Druck- und Volumenänderungen in beiden Fällen einander entgegengesetzt ist, kann es sich nicht um druckpassive Änderungen des Füllungszustandes der Darmgefäße handeln. Wir können vielmehr bei aller für die Deutung

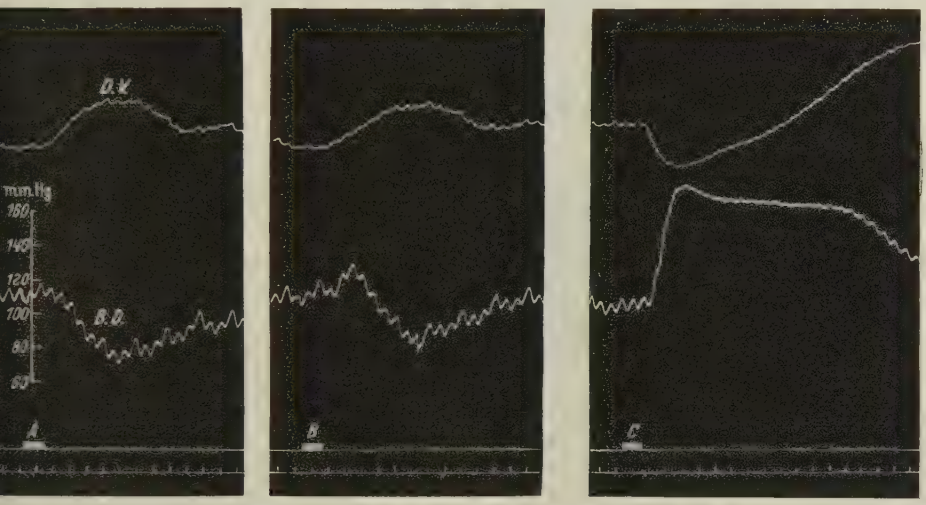


Abb. 5. Katze, 3,3 kg in Urethan-Chloralosenarkose. Obere Kurve (*D V*): Registrierung des Darmvolumens. Untere Kurve (*B D*): Blutdruck in der Art. femor. mit Quecksilbermanometer registriert. Zeitmarken: 5 Sekunden. *A*: 10 γ Isopropyladrenalin bewirken Darmvolumenzunahme und Blutdruckabfall. Beachte in den folgenden Kurvenabschnitten den grundsätzlichen Unterschied der Wirkung einer kleinen und einer großen Dosis Äthyladrenalin: Nach 100 γ in *B* Darmvolumenzunahme und Blutdruckabfall, nach 1 mg in *C* Darmvolumenabnahme und Blutdruckanstieg.

von Onkometerkurven gebotenen Vorsicht annehmen, daß die Volumenabnahme auf eine Darmgefäßverengung durch Äthyladrenalin zurückzuführen ist.

Bei Isopropyladrenalin finden wir stets Blutdruckabfall und dementsprechend auch nur Darmgefäßerweiterung (s. Abb. 5 bei *A*).

Die direkte Gefäßwirkung der einzelnen Körper ließ sich auch an künstlich durchbluteten Gefäßen nachweisen.

Wir durchströmten die hinteren Extremitäten von Hunden mit einer Dale-Schuster-Pumpe. Das defibrinierte Blut wurde entweder vom Herz-Lungen-Präparat des gleichen Hundes oder von einem Arterialisator (Modell Hooker) arterialisiert. Jede Änderung der Gefäßweite kommt bei dieser Versuchsanordnung in einer Änderung des Durchströmungsdruckes zum Ausdruck.

Äthyladrenalin bewirkte in kleinen Gaben (1–3 γ) eine Gefäßerweiterung, in größeren (über 5 γ) eine Gefäßverengung. Die unmittelbare Gefäßwirkung von Äthyladrenalin stimmt somit grundsätzlich mit den im Blutdruckversuch sowie onkometrisch erhobenen Befunden überein. Das am Blutdruck gefundene Wirkungsverhältnis Adrenalin zu Äthyladrenalin gilt auch an künstlich durchströmten Gefäßen; Adrenalin ist etwa 20—30mal wirksamer (s. Abb. 6). Propyl- und Isopropyladrenalin sowie auch Butyl- und Isobutyladrenalin erweitern stets die isoliert durchströmten Gefäße, nur sind die Erweiterungseffekte offenbar infolge des Tonusverlustes nicht so ausgiebig.

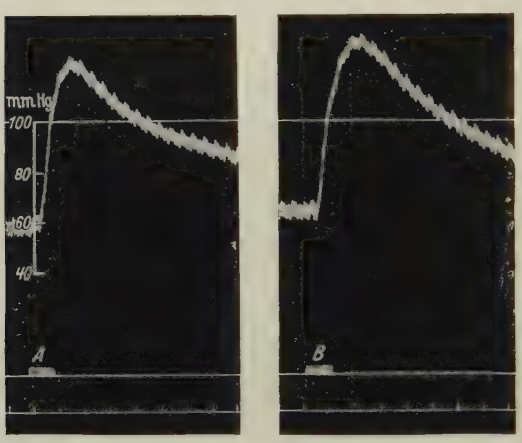


Abb. 5. Durchblutung der hinteren Extremitäten eines Hundes (9 kg) mit einer Dale-Schuster-Pumpe. Durchströmungsdruck mit Quecksilbermanometer registriert. Zeitmarken: 10 Sekunden. 100 γ Äthyladrenalin (in *A*) konstringieren die Gefäße etwa gleich stark wie 5 γ Adrenalin (in *B*).

Diese Versuche ergaben die gewünschte Ergänzung zu den beobachteten Blutdruckwirkungen. Es zeigte sich durchwegs volle Übereinstimmung zwischen Gefäß- und Blutdruckwirkung, so daß wir die Druckänderungen wohl in erster Linie auf Änderungen der Gefäßweite beziehen können.

Herzwirkung.

A. Am Herz-Lungen-Präparat.

Die Herzwirkung prüften wir am Starlingschen Herz-Lungen-Präparat (HLP) von Hunden (Gewicht 8—12 kg, Narkose: Morphin 8 mg/kg-Chloralose 80 mg/kg). Registriert wurden: Der arterielle Druck mit Hg-Manometer in der Aortenkanüle, der Druck im rechten Vorhof aus der Vena cava inf. mit Wassermanometer und Gadschem Volumenschreiber, das Minutenvolumen mit einer Weese-Stromuhr. Zur Bestimmung der Coronardurchblutung verwendeten wir eine Morawitz-Kanüle und registrierten den Coronar-Sinusausfluß mit dem Ausflußschreiber nach Rössler. Zur Bestimmung des Sauerstoffverbrauches benutzten wir die Anordnung von Starling und Visscher[3], wobei das Minutenvolumen mit einer Stolnikov-Stromuhr gemessen wurde. Um fördernde Wirkungen festzustellen, wurde entweder mit Pernocton geschädigt oder die Spontaninsuffizienz abgewartet.

Nachdem wir festgestellt hatten, daß die hier zu prüfenden Adrenalinderivate am HLP rasch und in kleinen Dosen nur kurzdauernd wirken,

[3] Starling, E. H., u. M. B. Visscher: J. Physiol. (Brit.) **62**, 243 (1927).

war die Möglichkeit gegeben, alle Derivate am gleichen Herzen vergleichend zu untersuchen. Als Beispiel bringen wir in Abb. 7 die graphische Darstellung eines derartigen Versuches an einem spontan insuffizienten Herzen.

Die Adrenalinderivate wurden nacheinander injiziert, jedoch darauf geachtet, daß vor Verabreichung eines neuen Körpers die Wirkung des vorher gegebenen möglichst abgeklungen war. Alle Körper haben eine gleichartige Wirkung: sie senken den Vorhofdruck, steigern das Minutenvolumen und erhöhen trotz Zunahme der Schlagfrequenz das Schlagvolumen. Die Unterschiede betreffen in gleichen Dosen vornehmlich die Intensität und Dauer der Wirkung. Den geringsten Einfluß auf Vorhofdruck und Minutenvolumen hat Isobutyladrenalin; am nachhaltigsten wirkt Isopropyladrenalin. Die anderen Körper verhalten sich etwa so wie Adrenalin.

Wichtig ist im Zusammenhang mit der Förderung des Minutenvolumens das Verhalten der Schlagfrequenz. Sie bleibt bei den kleinen Dosen von Isobutyladrenalin unverändert, so daß die Besserung der Förderleistung hier ausschließlich durch Zunahme des Schlagvolumens zustande kommt. Die anderen Körper ergeben durchwegs Frequenzsteigerungen, am ausgesprochendsten Äthyl- und Isopropyladrenalin.

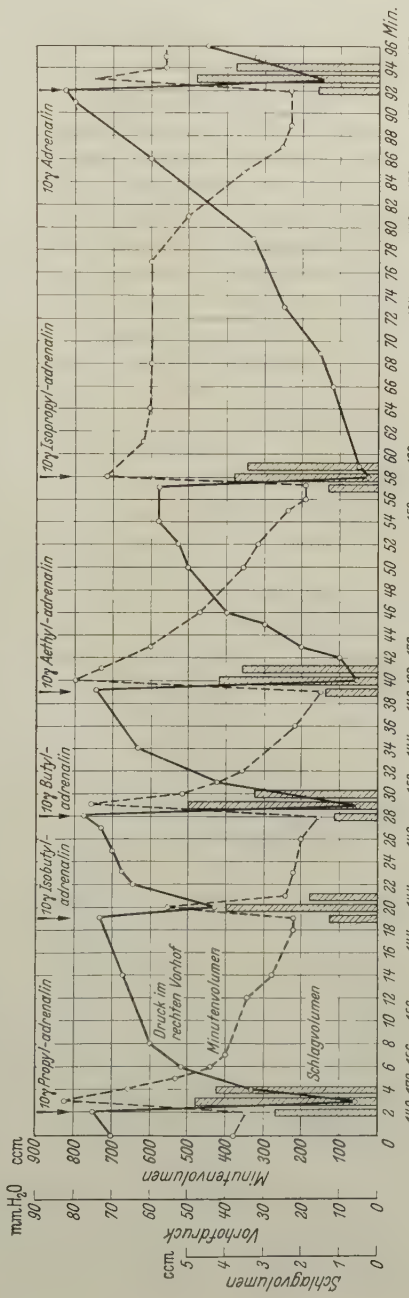


Abb. 7. Wirkung der Adrenalinderivate am Starlingschen Herz-Lungen-Präparat. Hund, 11 kg, Morphin (7 mg/kg)-Chloralose (80 mg/kg)-Narkose. Aortendruck unverändert 80 mm Hg.

In manchen Fällen prüften wir die Besserung der Leistungsfähigkeit am insuffizienten Herzen auch auf die Weise, daß wir durch Heben des venösen Reservoirs das Blutangebot vergrößerten. Während das pernoctongeschädigte Herz vor Verabreichung der Adrenalinderivate das vermehrte Angebot nur mit Steigerung des venösen Druckes ohne nennenswerte Minutenvolumenzunahme beantwortete, vermochte es nach Verabreichung der Adrenalinderivate in Dosen von 10—100 γ das vergrößerte Angebot voll auszuschöpfen.

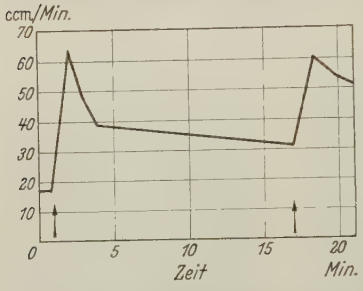


Abb. 8. Ausfluß aus dem Sinus coronarius. Ordinate: Kubikzentimeter Blut/Minute. Abszisse: Zeit in Minuten. Bei ▲ je 10 γ Isopropyladrenalin.

In einigen Versuchen haben wir den Einfluß von Isopropyladrenalin, das wegen seiner starken broncholytischen und ausgeprägten Herzwirkung besondere Beachtung verdient, auf die Coronardurchblutung untersucht. 10 γ erhöhten den Coronarsinusausfluß am nichtgeschädigten Herzen schlagartig von 16 ccm/Minute auf 63 ccm/Minute (s. Abb. 8). Das entspricht einer Zunahme von 300%. Nach 16 Minuten war der Coronarausfluß immer noch um 87% vermehrt. Eine neuerliche gleiche Gabe bewirkte wiederum die gleiche Ausflußsteigerung wie bei der ersten Injektion. Diese starke Erweiterung der Kranzgefäße ist deshalb von besonderer Wichtigkeit, weil Isopropyladrenalin den Sauerstoffverbrauch des Herzmuskels, wie wir in der Anordnung von Starling-Visscher[3] feststellen konnten, beträchtlich steigert. Wird die Einwirkung des Isopropyladrenalins auf den Sauerstoffverbrauch des Herzens vergleichend mit der von Adrenalin untersucht, so ergibt sich, daß für eine gleich starke Erhöhung des Sauerstoffverbrauches etwa 10fach höhere Adrenalindosen erforderlich sind. Dieser Befund soll hier lediglich erwähnt werden, ohne auf die Frage der Beziehung zwischen Herzstoffwechsel und Coronardurchblutung mit allen einschlägigen Teilfragen, z. B. die Auswirkung der starken Schlagfrequenzsteigerung auf den Sauerstoffverbrauch, ein zugehen. Das erheischt eingehendere Untersuchungen, die über den Rahmen dieser Ausführungen hinausgehen und im gegenwärtigen Zeitpunkt von uns nicht durchgeführt werden können.

Überblicken wir die Ergebnisse dieser Versuche, so zeigt sich, daß die untersuchten adrenalinverwandten Körper ähnlich wie Adrenalin eine Steigerung der Herzleistung bewirken. Während aber Adrenalin bei Verwendung kleiner Dosen die Herzfrequenz nur in geringem Ausmaß steigert, lösen Äthyl-, Propyl- und Isopropyladrenalin in gleichen Mengen eine viel stärkere Zunahme der Schlagzahl des Herzens aus. Butyl- und Isobutyladrenalin dagegen erhöhen die Schlagfrequenz nur sehr wenig oder überhaupt nicht.

B. Herzwirkung am ganzen Tier.

Die ausgesprochene Beeinflussung der Herzfrequenz am denervierten Herz-Lungen-Präparat durch die Mehrzahl der untersuchten Adrenalinderivate veranlaßte uns, die Schlagfrequenzänderungen auch am ganzen Tier bei unversehrten Kreislaufregulationen zu untersuchen. Wir wissen, daß das Eingreifen reflektorischer Regulationen den Einfluß frequenzwirksamer Pharmaka weitgehend verändern kann. So kommt es z. B. nach intravenöser Verabreichung kleiner Mengen von Adrenalin (0.25 mg) am wachen Hund nicht zu der am denervierten Herzen beobachteten Tachykardie, sondern zu einer Bradykardie, die reflektorisch infolge des Blutdruckanstieges ausgelöst wird. Unter den untersuchten Adrenalinderivaten weist nur Äthyladrenalin in größeren Dosen eine pressorische Wirkung auf; die übrigen senken den Blutdruck. Aus diesem Grunde mußte ein Vergleich dieser Körper mit Adrenalin gerade am ganzen Tier aufschlußreich sein.

Bei subcutaner oder intramuskulärer Injektion erhöhen alle angeführten Körper in entsprechenden Dosen die Schlagfrequenz. Wenn man die Schwellendosis bestimmt, die an 10—12 kg schweren Hunden sicher frequenzsteigernd wirkt, so erweist sich Isopropyladrenalin am wirksamsten. 10–50 γ steigern in den meisten Fällen die Frequenz von 70—80 auf 120 bis 140 Minute. Die anderen Derivate sind in so kleinen Dosen unwirksam. Erst 100–200 γ Propyl- und Butyladrenalin treiben die Herzschlagzahl am wachen Hund in die Höhe. Von Äthyladrenalin, das am HLP frequenzwirksamer ist als z. B. Butyladrenalin, sind 200–500 γ, von Isobutyladrenalin 1—3 mg zu einer Frequenzbeeinflussung erforderlich. Die verhältnismäßig hohe Schwellendosis von Äthyladrenalin ist wohl dadurch bedingt, daß die Resorption dieses Körpers, der neben seiner gefäßerweiternden eine deutlich gefäßverengende Komponente hat, etwas langsamer erfolgt. Die Wirkung setzt demgemäß bei Äthyladrenalin auch nicht so rasch ein wie bei den anderen Substanzen, die schlagartig wirken.

Daß die Schnelligkeit der Resorption für das Ausmaß der pulsbeschleunigenden Wirkung von größter Bedeutung ist, zeigt der Einfluß eines Zusatzes gefäßverengernder Substanzen. Wir haben verschiedene Kombinationen der Adrenalinderivate mit kleinen Dosen von Pituitrin, Adrenalin, Stryphnon oder Adrianol untersucht und dabei regelmäßig festgestellt, daß bei gleichzeitiger Verabreichung in der Mischspritze die sonst auftretende Pulsbeschleunigung gehemmt oder ganz unterdrückt wird. Am wirksamsten war in dieser Hinsicht die Kombination mit Adrenalin und Hypophysenhinterlappen-Extrakt. Wie stark dieser Einfluß ist, zeigt die in Abb. 9 wiedergegebene graphische Darstellung der Schlagfrequenzänderungen nach Isopropyladrenalin ohne und mit resorptionshemmenden Zusätzen. Die Hemmung des Frequenzanstieges ist wohl

in erster Linie auf eine lokale vasokonstriktorische Resorptionsbehinderung zurückzuführen, da sich nur die Injektion in der Mischspritze als vollwirksam erweist; werden die gefäßverengenden Mittel zwar gleichzeitig, aber an anderer Stelle eingespritzt, so ist die Frequenzhemmung viel weniger ausgesprochen.

Außer der Erhöhung der Schlagzahl bewirken die adrenalinähnlichen Körper entsprechend der Leistungsbesserung am Herz-Lungen-Präparat

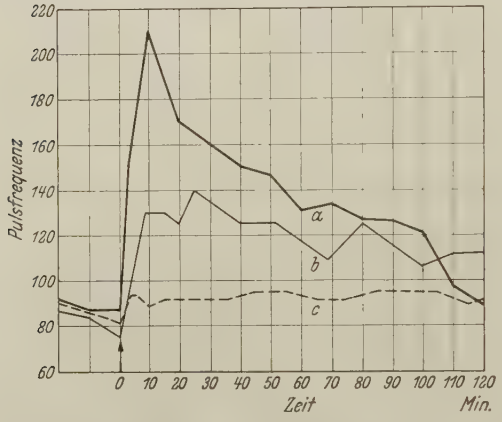
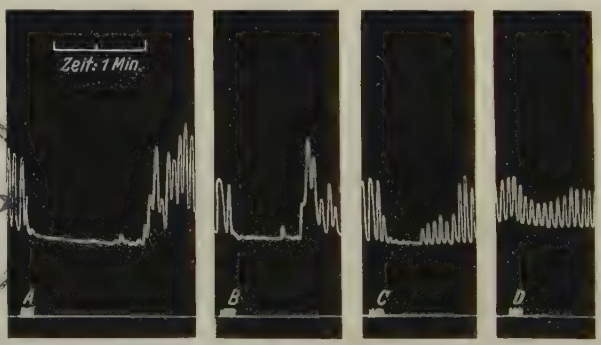


Abb. 9. Beeinflussung der Pulsfrequenzzunahme nach Isopropyladrenalin durch Zusatz von Pituitrin und Adrenalin. Hund Lori, 11 kg. Injektionen intramuskulär. Kurve *a*: 0,1 mg Isopropyladrenalin. Die Pulsfrequenz steigt von 90 auf 200. Kurve *b*: 0,1 mg Isopropyladrenalin + 10 γ Adrenalin. Die Pulszahl steigt nur auf 140. Kurve *c*: 0,1 mg Isopropyladrenalin + 10 γ Adrenalin + 1 Voegtlin-Einheit Pituitrin. Die Pulszahl bleibt unverändert.

auch am ganzen Tier eine Abnahme des Herzvolumens, die an Kardiometerkurven stets deutlich erkennbar war.

Darmwirkung.

Die Untersuchung wurde an isolierten Dünndarmstücken von Kaninchen durchgeführt, die in 20 ccm sauerstoffdurchperlter Tyrodelösung suspendiert



BOSTON
APR 7 1920
MEDICAL LIBRARY

Abb. 10. Kaninchendünndarm. Es wurde jeweils 0,1 ccm einer Lösung 1 : 10000 (10 γ) zu 20 ccm Badflüssigkeit zugesetzt. *A*: Adrenalin, *B*: Äthyladrenalin, *C*: Isopropyladrenalin, *D*: Butyladrenalin.

waren. Der Zusatz der zu prüfenden Substanzen erfolgte stets in Mengen von 0,1 ccm der 0,1‰igen Lösung, so daß die Endkonzentration 1 : 2 Millionen betrug.

Die Wirkungen sind in Abb. 10 zusammengefaßt. Adrenalin (bei *A*) ergab das bekannte Kurvenbild, die augenblickliche Hemmung der Bewegungen, die allmählich wieder abklingt. Ähnlich ist auch der Einfluß von Äthyladrenalin (bei *B*); doch geht hier die Hemmung früher zurück als nach Adrenalin. Isopropyladrenalin (bei *C*) und ebenso Propyladrenalin wirkten etwa gleich stark hemmend; der Einfluß war aber hier noch flüchtiger als der des Äthyladrenalins. Butyladrenalin (bei *D*) sowie Isobutyladrenalin ließen die Darmhemmung nur andeutungsweise erkennen.

Uteruswirkung.

Zur Prüfung der Uteruswirkung benutzten wir Streifenpräparate des graviden Kaninchenuterus in der für den Darm angewandten Anordnung.

Abb. 11 zeigt die völlig gleichartige kontrahierende Wirkung von Adrenalin 1 : 1 Million bei *A* und Äthyladrenalin 1 : 100000 bei *B*. Propyl-, Isopropyl-, Butyl- und Isobutyladrenalin waren auch in Konzentrationen bis 1 : 20000 völlig wirkungslos. Nach Gynergenvorbehandlung ergab Äthyladrenalin die von Dale[4] für Adrenalin beschriebene Umkehr bzw. Aufhebung der Wirkung.

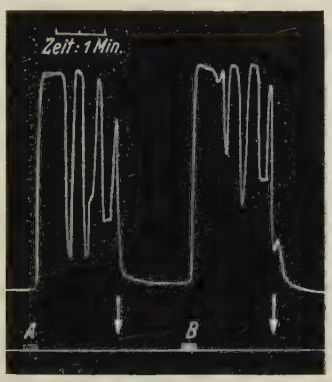


Abb. 11. Kaninchenuterus, gravid. Zu 20 ccm Badflüssigkeit wurden bei *A* 0,2 ccm einer Adrenalinlösung 1: 10000 (20 γ), bei *B* 0,2 ccm einer Äthyladrenalinlösung 1 : 1000 (200 γ) zugesetzt.

Wirkung auf die Nickhaut der Katze.

Die Exstirpation des Ganglion cervicale superius steigert bekanntlich die Empfindlichkeit der Iris und der Nickhaut für Adrenalin, so daß eine sonst unwirksame Adrenalindosis Mydriasis bzw. Retraktion der Nickhaut

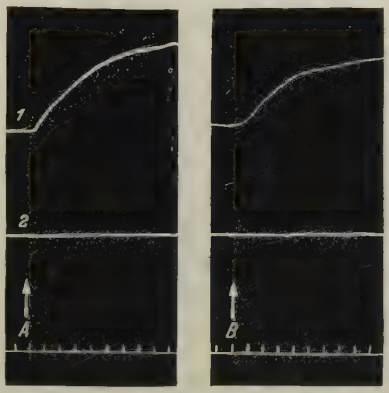


Abb. 12. Registrierung der Nickhautbewegungen einer Katze, der 10 Tage vorher das linke Ganglion cervicale superius exstirpiert worden war. Urethan-Chloralosenarkose. Zeitmarken: 5 Sekunden. Ein durch die Nickhaut gezogener Faden war über einer Rolle mit einem Schreibhebel verbunden, der die Bewegungen auf einem Kymographion verzeichnete. Obere Kurve (1): Sensibilisiertes linkes Auge. Untere Kurve (2): Rechtes Auge. *A*: 5 γ Adrenalin i. v. *B*: 100 γ Äthyladrenalin i. v.

[4] Dale, H. H.: J. Physiol. (Brit.) **34**, 163 (1906).

hervorruft[5]. Ein Vergleich unserer Adrenalinderivate mit Adrenalin hatte folgendes Ergebnis:

Die intravenöse Injektion von 5 γ Adrenalin (s. Abb. 12 bei *A*) bewirkte an der durch Ganglionexstirpation sensibilisierten Nickhaut (obere Kurve) eine starke Kontraktion, während die nicht-sensibilisierte Nickhaut (untere Kurve) unbeeinflußt blieb. Eine 20fach höhere Äthyladrenalinmenge (100 γ in *B*) hatte einen ähnlichen Erfolg; es kam ebenfalls nur am sensibilisierten Auge zu einer Reaktion der Nickhaut. Propyl-, Isopropyl-, Butyl- sowie Isobutyladrenalin hatten auch in hohen Dosen keinen Einfluß.

Blutzuckerwirkung.

Zwei der angeführten Adrenalinderivate, Äthyl- und Isopropyladrenalin, haben wir orientierend auch auf ihre Wirkung auf den Blutzucker geprüft. Die beiden Substanzen wurden Kaninchen, die 18–20 Stunden vorher

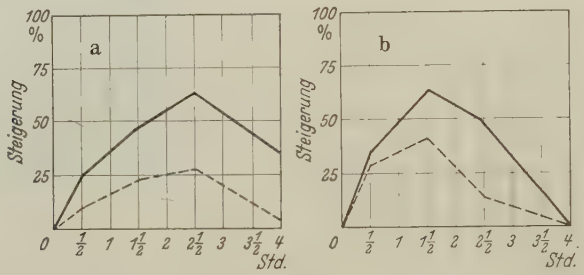


Abb. 13. Blutzuckerwirkung von 1 mg Äthyladrenalin (*A*) und 1 mg Isopropyladrenalin (*B*) an zwei Kaninchen. Ordinate: % Steigerung. Abszisse: Zeit nach der subcutanen Injektion.

gehungert hatten, subcutan injiziert. Die Bestimmung des Blutzuckers erfolgte vor der Injektion und $^1/_2$, $1^1/_2$, $2^1/_2$ und 4 Stunden nachher mit der Methode nach Hagedorn-Jensen.

Der Blutzucker des Kaninchens wird durch große Dosen beider Körper erhöht (s. Abb. 13), allerdings in viel geringerem Maße als nach Adrenalin. Auffällig ist, daß die Blutzuckersteigerung den Höchstwert nach Äthyladrenalin später erreicht als nach Isopropyladrenalin. Das mag wohl damit zusammenhängen, daß Isopropyladrenalin infolge der Gefäßerweiterung rasch resorbiert wird, während Äthyladrenalin in gleicher Dosis die Gefäße verengt und dadurch die Resorption verlangsamt.

Toxizität.

Wir bestimmten die tödlichen Dosen an weißen Mäusen im Gewicht von 12–22 g. Die zu untersuchenden Substanzen wurden in 0,025–1%igen Lösungen unter die Rückenhaut gegeben. Die Injektionsmenge betrug höchstens 1 ccm.

[5] Meltzer, S. J., u. J. Auer: Amer. J. Physiol. **11**, 28 (1904).

Die nicht sehr ausgeprägten Vergiftungserscheinungen waren bei allen Körpern ähnlich: die Tiere wurden unruhig, die Atmung war beschleunigt, manchmal schlossen sich Zuckungen und Krämpfe an (besonders bei Äthyladrenalin); meistens aber nahmen die Tiere nach Verabreichung letaler Dosen Rücken- oder Seitenlage ein und verfielen in ein Lähmungsstadium. Atem- und Herzstillstand traten in der Regel gleichzeitig ein; gelegentlich beobachteten wir, daß auch nach Aufhören der Atmung das Herz noch kurze Zeit weiterschlug. Tabelle 1 zeigt die Wirkungsunterschiede der Körper.

Tabelle 1. Toxizität an weißen Mäusen bei subcutaner Injektion.

Dosis	Äthyladrenalin		Propyladrenalin		Isopropyl-adrenalin		Butyladrenalin		Isobutyl-adrenalin	
mg/g	tot	überlebt	tot	überlebt	tot	überlebt	tot	überlebt	tot	überlebt
0,003	0	4								
0,004	1	3								
0,006	2	2								
0,008	3	1								
0,01	3	1								
0,02	4	0								
0,03	4	0			0	6				
0,04			0	4	0	4				
0,06					1	4	0	4		
0,075			0	4	3	1				
0,12					4	0	0	4	0	4
0,14			0	4						
0,15			0	4			0	4	0	4
0,20			1	3			0	4	0	4

Auffallend ist, daß mit zunehmender Zahl der C-Atome am Amino-N die Giftigkeit abnimmt. So töteten Butyl- und Isobutyladrenalin selbst in Mengen, die 10mal höher waren als die sicher tödliche Dosis von Äthyladrenalin (die ungefähr mit der von Adrenalin übereinstimmt) die Mäuse nicht; es kam lediglich zu einer Beschleunigung der Atmung. An ähnlichen Ephedrinderivaten hatten Chen und Mitarbeiter[6] das Gegenteil beobachtet: Mit steigender Zahl der C-Atome am Amino-N stieg die Giftigkeit.

Beachtenswert ist, daß auch in bezug auf Toxizität die Isomeren verschieden wirkten. So erwies sich z. B. Propyladrenalin weniger giftig als Isopropyladrenalin.

Besprechung der Ergebnisse.

Adrenalinverwandte Körper, die an Stelle des Methylrestes am Amino-N eine Äthyl-, Propyl-, Isopropyl-, Butyl- oder Isobutylgruppe tragen und vergleichend mit Adrenalin geprüft wurden, zeigten bei der Untersuchung

[6] Chen, K. K., Chang-Keng Wu u. E. Henriksen: J. Pharmacol. (Am.) **36**, 363 (1929).

ihrer Wirkung auf Herz, Blutdruck und isolierte Organe neben gewissen Übereinstimmungen auch bemerkenswerte Unterschiede gegenüber Adrenalin.

Der chemisch dem Adrenalin am nächsten stehende Körper, das Äthyladrenalin, kommt dem Adrenalin auch in seinen Wirkungen am nächsten. So führen kleine Dosen zu einer Gefäßerweiterung und Blutdrucksenkung, große zu einer Gefäßverengung und Blutdrucksteigerung. Nach wiederholter Verabreichung schwindet allerdings die depressorische Wirkung von Äthyladrenalin und es kommt zu rein pressorischen Effekten. Wir finden hier ein Verhalten, das in entgegengesetzter Richtung vom Ephedrin bekannt ist: Bei Äthyladrenalin der Umschlag von Blutdrucksenkung in Steigerung, bei Ephedrin die Umkehr der Blutdrucksteigerung in Senkung.

Die nahe Verwandtschaft mit Adrenalin zeigt sich im Verhalten gegenüber Cocain und Ergotamin: Cocainvorbehandlung verstärkt die Blutdrucksteigerung von Äthyladrenalin wie die von Adrenalin; nach Ergotamin kommt es zu einer lang anhaltenden Blutdrucksenkung. Die „Umkehr" der Blutdruckwirkung nach Ergotamin geht bei Adrenalin viel rascher vorüber als bei Äthyladrenalin. Wir finden die blutdrucksenkende Wirksamkeit auch sonst bei Äthyladrenalin viel stärker betont als bei Adrenalin, das nur unter besonderen Bedingungen, z. B. bei Infusion kleinster Dosen depressorisch wirkt, während Äthyladrenalin noch in Gaben von 30—60 γ reine Blutdrucksenkungen ergibt.

In der Wirkung am denervierten Herz-Lungen-Präparat stimmen Adrenalin und Äthyladrenalin annähernd überein; sie steigern das Schlagvolumen und erhöhen die Pulszahl. Unterschiede ergeben sich nur bei intakten Kreislaufregulationen, die nach Adrenalin reflektorisch eine Bradykardie erzeugen, während Äthyladrenalin auch unter diesen Bedingungen die Pulszahl steigert. In den sonstigen Wirkungen (Darm, Uterus, Nickhaut, Blutzucker) verhalten sich Adrenalin und Äthyladrenalin nur quantitativ verschieden; Adrenalin ist etwa 10—30fach wirksamer.

Die anderen Adrenalinderivate, die durch Einführen weiterer CH_3-Gruppen am Amino-N gewonnen und je nach ihrer Zahl und Stellung als Propyl-, Isopropyl-, Butyl- oder Isobutyladrenalin bezeichnet wurden, weichen von der Wirkungsweise des Adrenalins viel stärker ab. Am auffälligsten sehen wir den Unterschied in der Beeinflussung des Blutdruckes: Die pressorische Komponente ist völlig verschwunden, es kommt in allen Dosierungsbereichen zu einer Blutdrucksenkung. Auch die erregende Wirkung auf den graviden Uterus sowie die Retraktion der sensibilisierten Nickhaut scheinen bei diesen Derivaten nicht mehr auf. Eine gewisse Ähnlichkeit mit Adrenalin konnten wir nur in der fördernden Herzwirkung und der Hemmung der Darmbewegungen beobachten.

Ein Überblick über die Wirkung der untersuchten Adrenalinabkömmlinge in Beziehung zu ihrer chemischen Struktur ergibt, daß mit zu-

nehmender Zahl der C-Atome am Aminostickstoff die pressorische Wirkung abnimmt und beim Propyladrenalin in eine depressorische umschlägt. Gleich der pressorischen Wirkung nimmt auch die Hemmung der Darmbewegungen in der Reihe ab, die Erregung des graviden Uterus und der sensibilisierten Nickhaut ist bei Propyladrenalin schon völlig verschwunden. Nur der Einfluß auf die Schlagfrequenz läßt in den ersten drei Gliedern der Reihe eine starke Zunahme der Wirksamkeit erkennen, die im Isopropyladrenalin das Höchstmaß erreicht und im Butyl- bzw. Isobutyladrenalin wieder abklingt.

Die hier mitgeteilten Beobachtungen stimmen mit den von anderen Autoren an ähnlichen chemischen Reihen gefundenen Beziehungen zwischen Konstitution und Wirkung in mancher Hinsicht überein. So fanden Barger und Dale[7], daß bei p-Hydroxyphenyläthylaminen und bei Methylamino-äthyl-catecholen sowie mit einer gewissen Einschränkung auch bei Amino-acetocatecholen die pressorische Wirkung mit steigender Zahl der am Amino-N eingeführten C-Atome abnahm. Auch für die hemmende Wirkung am nicht-schwangeren Katzenuterus galt diese Gesetzmäßigkeit.

An Ephedrinderivaten, die am Amino-N ebenfalls eine Methyl-, Äthyl-, Propyl- oder Butylgruppe hatten, fanden Chen und Mitarbeiter [6] ein ähnliches Verhalten. Mit zunehmender Zahl der C-Atome am Amino-N schlug bei Propylephedrin die pressorische Wirkung in eine depressorische um. Nach diesen Autoren ist aber die Hemmung der Darmbewegungen sowie die kontrahierende Wirkung auf den Uterus bei allen untersuchten Ephedrinderivaten ungefähr gleich stark ausgeprägt.

Am bemerkenswertesten an den hier beschriebenen Adrenalinderivaten erscheint jedoch die besonders eindrucksvolle, dem Adrenalin sogar überlegene broncholytische Wirkung[1].

Zusammenfassung.

1. Adrenalinverwandte Körper, die am Amino-N an Stelle der Methylgruppe einen Äthyl-, Propyl-, Isopropyl-, Butyl- oder Isobutylrest haben, wurden hinsichtlich ihrer Wirkung auf den Kreislauf sowie auf isolierte Organe untersucht und mit Adrenalin verglichen.

2. Bezüglich der Blutdruckwirkung erweist sich Äthyladrenalin dem Adrenalin am ähnlichsten. Kleine Dosen senken, große Dosen steigern den Blutdruck. Nach Cocain kommt es zu einer Verstärkung, nach Ergotamin zu einer „Umkehr" der pressorischen Wirkung. Alle übrigen Derivate senken den Blutdruck. Die Blutdruckwirkungen beruhen vorwiegend auf peripherer Gefäßwirkung.

---

[7] Barger, G., u. H. H. Dale: J. Physiol. (Brit.) **41**, 19 (1910.)

3. Am künstlich geschädigten Herzen sind alle geprüften Körper leistungssteigernd. Äthyl-, Propyl- und besonders Isopropyladrenalin erhöhen stark die Frequenz: bei Butyl- und besonders bei Isobutyladrenalin ist die Frequenzerhöhung nur mehr angedeutet.

4. Am ganzen Tier steht die Frequenzsteigerung im Vordergrund der Kreislaufwirkung: sie läßt sich durch resorptionsverzögernde, gefäßverengernde Mittel einschränken.

5. Die Hemmung der Darmbewegungen nimmt mit zunehmender Zahl der am Amino-N angefügten C-Atome ab. Am graviden Kaninchenuterus und an der durch Exstirpation des Ganglion cervicale superius sensibilisierten Nickhaut der Katze ist nur Äthyladrenalin adrenalinartig wirksam.

6. Auf die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung wird hingewiesen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: O. Gros.)

Über die Fortleitung von Coriphosphin im Nervensystem.

Von

Hans T. A. Haas.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. Oktober 1940.)

Mittels Fluoreszenzmikroskop konnten Spitzer und Loos[1] an Kaninchen in histologischen Präparaten eine Wanderung der Farbstoffe Coriphosphin O und Thioflavin S über den Nervenweg feststellen, falls die Farbstoffe in den operativ freigelegten Ischiadicus intraneural, also zwischen die einzelnen Nervenbündel, oder paraneural, also unter die Bindegewebshülle des Gesamtnerven injiziert wurden. Die Farbstoffe werden dabei vom Orte der Injektion in einem der beiden Ischiadici bis in das Rückenmark und sogar auf den Nerven der anderen Extremität weiter befördert. Mit diesem Verhalten gegenüber dem Nervensystem nehmen die genannten Farbstoffe nach der Ansicht der Untersucher eine Sonderstellung innerhalb der Farbstoffgruppe ein. Injektionen mit anderen Substanzen, wie Trypaflavin, Chelidoniumextrakt, Geranin G und Aurophosphin zeigten im Gegensatz zu Coriphosphin und Thioflavin eine Fortleitung im Nerven nur soweit, als es dem Druck der Injektion bzw. dem Diffusionsvermögen entsprach. In Versuchen von Sicher und Spitzer[2] mit Methylenblau ließ sich dieser Farbstoff bei paraneuraler Zufuhr ebenfalls innerhalb des Nervengewebes nur soweit verfolgen, als eine Diffusion der Flüssigkeit im umliegenden Bindegewebe stattfand. Ebenso fand Wischnewsky[3] bei perineuraler Injektion von Methylenblau, daß die Färbung der Nervenstränge selbst bei gleichzeitiger Senkung des Subarachnoidaldruckes und Muskelarbeit nur eine Fortbewegung von sehr beschränkten Ausmaßen zeigte. Demgegenüber betonen Horster und Whitman[4], daß es am lebenden Tier ebenso wie am Leichenmaterial (Key und Retzius[5] und andere, Literatur s. Horster und Whitman) ohne weiteres gelingt, Farbstoffe wie das Trypanblau bei intraneuraler Applikation allein durch den Injektionsdruck bis hoch hinauf in den Spinal- und Subarachnoidalraum zu führen. Das gleiche Ergebnis erzielte

[1] Spitzer, B., u. St. Loos: Jb. Psychiatr. (Ö.) **50**, 309 (1933). — [2] Sicher, St., u. B. Spitzer: Z. Stomat. **27**, 1069 (1929). — [3] Wischnewsky, A. S.: Z. exper. Med. **61**, 107 (1928). — [4] Horster, H., u. L. Whitman: Z. Hyg. **113**, 113 (1931). — [5] Key, A., u. G. Retzius: Arch. mikrosk. Anat. **9**, 308 (1873).

Uljanow[6] am intakten Tier mit intraneuraler Carmin- und KJ-Zufuhr. Eine Wanderung entlang der Nerven der entgegengesetzten Extremität findet in diesen Versuchen allerdings keine Erwähnung. Eine derartige Angabe ist jedoch in den Befunden von Shamboroov und Tschibukmakher[7] enthalten, die beobachten konnten, daß bei experimentell gesetzten Entzündungen peripherer Nerven Trypanblau, das mit dem Blute zugeführt wird, vom Peri- und Endoneurium und den Schwannschen Zellen absorbiert wird, während normalerweise dieser Stoff vom Blutwege aus nicht in die Nerven eindringt. In geringen Mengen kommt der Farbstoff dabei auch bis in die Nerven der entgegengesetzten Seite und bis in die Eintrittszonen der Wurzeln im Rückenmarkkanal.

Damit entfällt offensichtlich die von Sicher und Loos[1] angenommene Sonderstellung des Coriphosphin (C.). Daneben enthalten aber die Versuche von Shamboroov und Tschibukmakher den weit wichtigeren Hinweis, daß das periphere Nervensystem auch im lebenden Organismus ohne Injektion direkt in den Nerven Substanzen vom Typ der Farbstoffe zu transportieren vermag. In die gleiche Richtung scheinen auch die Versuche von Uljanow[6] zu weisen, der selbst bei intramuskulärer Injektion von Carmin, allerdings erst nach Ablauf vieler Stunden ein Vordringen des Farbstoffes entlang der Nerven über das Gebiet der Injektionsstelle erzielte, falls er durch elektrische Reizung die Muskulatur des injizierten Beines zur Bewegung zwang. Es ist bei diesen Angaben allerdings nicht restlos ersichtlich, ob die beobachtete Ausbreitung entlang der Nervenbahnen wirklich einer Wanderung innerhalb des Nerven entsprach, oder ob es sich dabei lediglich um eine Anfärbung der äußeren Nervenkonturen handelte.

In Erweiterung dieser Befunde konnten wir unter Anlehnung an die Ergebnisse von Spitzer und Loos für das Coriphosphin am lebenden Tier eine Wanderung innerhalb des peripheren Nervensystems feststellen, und zwar unter Einhaltung der Bedingung, daß der Farbstoff nicht unmittelbar in die Nervensubstanz, sondern intramuskulär zugeführt wurde.

Damit reiht sich das C. in eine Gruppe von bestimmten chemischen Substanzen und Krankheitserregern ein, denen ebenfalls die Fähigkeit zugesprochen wird, innerhalb des lebenden Organismus vor ihrem Aufnahmeort bis zur Stätte ihrer Wirkung entlang der peripheren Nervenbahnen vorzudringen. Hierher gehören zunächst verschiedene Virusarten, wie die Erreger der Lyssa[8–11], Poliomyelitis[12–14], der Bornaschen Krank-

[6] Uljanow, P.: Z. exper. Med. **64**, 638 (1929). — [7] Shamboroov, D. A., u. N. B. Tschibukmakher: Act. med. scand. (Schwd.) **97**, 175 (1938); zit.: Zbl. Neur. **93**, 304 (1939). — [8] Schaffer, K.: Beitr. path. Anat. **7**, 191 (1890). — [9] Di Vestia u. Zagari: Giorn. int. Sci. med. 1889; ref.: Zbl. Bakter. usw. **6**, 25 (1889). — [10] Helmann: Ann. Inst. Past. **3**, 15 (1889). — [11] Goodpasture, E. W.: Amer. J. Path. **1**, 547 (1925). — [12] Flexner, S. P. F., Clark u. H. L. Amos: J. exper. Med. (Am.) **19**, 205 (1915). — [13] Fairbrother, R. W., u. E. W. Hurst: J. Path. a. Bacter. **33**, 17 (1930). — [14] Pette, H., H. Demme u. St. Körney: Dtsch. Z. Nervenhk. **128**, 125 (1932).

heit der Pferde[15, 16] und des Herpes der kleinen Laboratoriumstiere[17–19], bei denen sich jeweils zahlreiche Untersucher, gestützt auf die Ergebnisse morphologischer und experimenteller Forschungen, für ein Fortschreiten der Krankheitserreger entlang der peripheren Nerven ausgesprochen haben. Hinzu kommen das Tetanus- und Diphtherie-Toxin, für das die Arbeiten von Meyer und Ransom[20] und Meyer[21] den Nachweis erbrachten, daß diese Gifte über die peripheren Nervenstränge zentralwärts befördert werden. Auch in der Reihe der Pharmaka stehen Stoffe wie das Thyroxin und Veratrin, bei denen Mansfeld[22] bzw. Bezold und Hirt[23], Heubner[24] und Joteyko[25] die Möglichkeit einer Beteiligung des Nervensystems am Gifttransport in Erwägung zogen. Diese Auffassung ist aber in beiden Fällen nicht allzu sicher begründet und für das Veratrin nach den Untersuchungen von Mies[26] nicht haltbar. Das gleiche trifft auch für die Angabe von Lichtwitz[27] zu, der dem Adrenalin die Fähigkeit einer Ausbreitung entlang der peripheren Nervenstämme zusprach, eine Annahme, die von Meltzer[28] schlagend widerlegt werden konnte.

Abgesehen von den eigentlichen Pharmaka gilt bei den besprochenen Virusarten und Toxinen die Tatsache einer Wanderung innerhalb des peripheren Nervensystems als unbestritten. Weniger sicher steht es mit der Beantwortung der Frage, an welchen Stellen im Nerven die Propagation der Viren und Toxine stattfindet, ob sie innerhalb der Lymphbahnen oder im Parenchym erfolgt. Bei den Viruskrankheiten steht die Entscheidung noch aus, so daß eine Wanderung innerhalb der Lymph- und Liquorräume, ebenso wie ein Transport der Erreger über die Achsenzylinder Befürworter findet. Diese letztere Auffassung wird für die Poliomyelitis insbesondere von Pette[14] und beim Herpes von Pette[29], Goodpasture und Teague[17] sowie Hurst[19] vertreten. Bei den Toxinen kann die von Meyer und Ransom[20] zunächst vorgetragene Ansicht, daß die Giftwanderung in den Achsenzylindern und im Fibrillenplasma vor sich gehe, durch die Arbeiten von Aschoff und Robertson[30], Gottlieb und Freund[31] sowie Ponomarow[32] als widerlegt betrachtet werden, so daß heute die Lymphbahnentheorie bei den Toxinen den Vorzug verdient.

---

[15] Zwick, W., O. Seifried u. J. Witte: Z. Krkh. Haustiere **30**, 42 (1926); **32**, 150 (1927). — [16] Niclau, S., u. J. A. Galloway: C. r. Soc. Biol. **99**, 1445, 1457 (1928). — [17] Goodpasture, E. W., u. O. Teague: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **20**, 545 (1923). — [18] Marinesco, G., u. S. Draganesco: J. med. Res. (Am.) **44**, 185 (1923). — [19] Hurst, W.: Festschr. Marinesco **1933**. S. 309; zit.: Doerr, R.: Z. Hyg. **118**, 212 (1936). — [20] Meyer, H. H., u. F. Ransom: Arch. exper. Pharm. **49**, 369 (1903). — [21] Meyer, H.: Arch. internat. Pharmacodynam. **15**, 419 (1905). — [22] Mannsfeld, G.: Klin. Wschr. **1935**, S. 884; Arch. exper. Pharm. **193**, 241 (1939). — [23] v. Bezold, A., u. L. Hirt: Unt. Würzb. Labor. **1**, 73 (1867). — [24] Heubner, W.: Arch. exper. Pharm. **107**, 129 (1925). — [25] Joteyko, J.: Inst. Saovay Trav. **5**, 271 (1902). — [26] Mies, H.: Pflügers Arch. **214**, 532 (1928). — [27] Lichtwitz, L.: Arch. exper. Pharm. **58**, 221 (1908). — [28] Meltzer, S. J.: Ebenda **59**, 458 (1908). — [29] Pette, H.: Dtsch. Z. Nervenhk. **124**, 43 (1932). — [30] Aschoff, L., u. Robertson: Med. Klin. **1915**, S. 715. — [31] Gottlieb, R., u. H. Freund: Münch. med. Wschr. **1916**, S. 741. — [32] Ponomarew, A. W.: Z. exper. Med. **61**, 93 (1928).

In Hinblick auf diese Fragestellung, welche Teile der Nervenbahnen im wesentlichen für eine Ausbreitung von Fremdstoffen verantwortlich zu machen sind, bietet das Farbstoffexperiment den besonderen Vorteil, daß es einen genaueren Einblick in die Lokalisation des zugeführten Stoffes und damit auch eine Festlegung des Ortes erlaubt, an dem der Transport vor sich geht. Nach Spitzer und Loos[1] ist dieser Ort innerhalb der Lymph- und Saftspalten zu suchen, wie sie aus dem Ausfall der histologischen Befunde und der Versuche nach Ligatur des freigelegten Nerven, wo eine Wanderung unterblieb, schließen. Es ist aber zu bedenken, daß bei allen diesen Untersuchungen die Einführung des Farbstoffes direkt in die Bindegewebsräume des Nerven erfolgte, und zwar sicherlich unter Ausübung eines gewissen Druckes, der sich wohl kaum restlos vermeiden lassen dürfte. Es schien daher lohnenswert, diese Fragestellung nach dem Ausbreitungsweg des C. im Nerven nochmals unter etwas günstigeren und den physiologischen Verhältnissen besser angepaßten Bedingungen zu prüfen.

I.

Die Versuche wurden an Rana temporaria durchgeführt. Als Farbstoff wurde Coriphosphin H und O in einer Konzentration von 1 : 200—1 : 1000 benutzt. Die Zufuhr erfolgte stets in Dosen von 0.2 ccm, und zwar am dekapitierten Tier in einen Unterschenkel, der allein mittels des Nervus ischiadicus und des Knochens mit dem übrigen Körper in Verbindung stand. Nach den Untersuchungen von Mies[26] verlaufen innerhalb des Ischiadicus Gefäße, die eventuell an einer Verbreiterung von Giften und Fremdkörpern maßgeblich beteiligt sind, wie Mies speziell für das Veratrin nachweisen konnte. Infolgedessen bestand die Notwendigkeit, die Zirkulation innerhalb des isolierten Ischiadicus völlig zu unterbinden, wenn eindeutige Resultate erzielt werden sollten. In Bestätigung der Beobachtungen von Miess konnten wir ebenfalls feststellen, daß innerhalb des normalen Ischiadicus vom Frosch relativ große Blutgefäße und eine dauernde Blutströmung nachweisbar sind. Die Zirkulation bleibt in diesen Gefäßen auch erhalten bei Ausführung der Claude-Bernardschen Operation in Form einer Unterbindung des gesamten Oberschenkels und alleiniger Belassung des Ischiadicus außerhalb der Ligatur. Eine Ausdehnung der Claude-Bernardschen Operation auf eine Abschnürung des Oberschenkels in der Leistenbeuge und gleichzeitiger Anlegung einer zweiten Ligatur oberhalb der Kniekehle, sowie völliger Entfernung der gesamten Muskulatur und des Periosts zwischen den beiden Unterbindungen bei Belassung des Knochens hatte zur Folge, daß ein völliges Sistieren der Zirkulation im isoliert stehengebliebenen Ischiadicus eintrat. In vielen Kontrollen ließ sich dieser Befund an dekapitierten bzw. narkotisierten Tieren regelmäßig erheben, so daß wir uns entschließen konnten, diese Form der operativen Behandlung zu den eigenen Versuchen zu benutzen.

Bei derart vorbehandelten Tieren erfolgte die Zufuhr des Giftes in den Unterschenkel. Die Wanderung des C. wurde am lebenden Tier mittels des Fluoreszenzmikroskops verfolgt. In Vorversuchen mit Säurefuchsin und Methylviolett in 10%iger Lösung, sowie Trypanblau in 5%iger Lösung, von denen je 0.5 ccm 4 Fröschen injiziert wurden, konnten wir uns überzeugen, daß diesen Farbstoffen bei Applikation in den Unterschenkel im allgemeinen ein Vordringen über die Ligatur im Bereich der Kniekehle nicht möglich ist. Das gleiche gilt auch für C. Beim Säurefuchsin, Methylviolett und Trypanblau konnte ein Vordringen der Farbstoffe über den isolierten Ischiadicus auch bei langdauernder Beobachtung nie festgestellt werden. In einzelnen Fällen kam es zum Austritt eines Tropfens des Farbstoffes aus der Wundfläche oberhalb des Knies während der Injektion in den Unterschenkel. Derartige Versuche wurden nicht benutzt, um eine Verschmierung der Farbe auf der Oberfläche des Nerven zu vermeiden.

Histologische Präparate dienten dem Nachweis, daß der Farbstoff sich tatsächlich im Innern der Nerven ausbreitet. Die Schnitte wurden nach den Angaben von Spitzer und Loos[1] von Froschnerven angefertigt, die 6 Stunden nach der Einführung des Farbstoffes in den Unterschenkel entnommen und sodann in Formoldämpfen 6—7 Tage fixiert und gehärtet wurden. Zur Herstellung der Schnitte wurde das Gefriermikrotom benutzt, da eine Einbettung in Paraffin sich infolge der störenden Eigenfluoreszenz dieses Stoffes verbietet. An derart vorbereiteten Präparaten konnten wir allerdings keine feineren histologischen Einzelheiten ermitteln, da bei dieser Behandlung gute und dünne Schnitte von Froschnerven nicht zu gewinnen waren. Andererseits genügten die Bilder völlig, um das Vorhandensein des Farbstoffes im Inneren der Nerven mit Sicherheit festzustellen.

Bei der Beobachtung am lebenden Frosch setzte die Färbung innerhalb des Ischiadicus bei Injektion in den Unterschenkel nach 2—3 Stunden in den unteren Abschnitten des Nerven ein, um in der Folge rasch an Intensität und Ausbreitung fortzuschreiten. Nach 4—6 Stunden war bereits der Nerv der gegenüberliegenden Seite angefärbt, wenn auch in schwächeren Ausmaßen. In einigen Versuchen konnte dieser Befund bereits nach 3—4 Stunden erhalten werden. Das Eindringen des Farbstoffes gab sich im Fluoreszenzmikroskop an einem Umschlag der normalen Blautönung des Nerven in gelblichgrün zu erkennen.

Ein Einblick in weitere Einzelheiten wurde in Versuchen an Kaninchen gewonnen. Hierbei wurde die Injektion des Farbstoffes ebenso wie bei den Untersuchungen von Spitzer und Loos intraneural am narkotisierten Tier in den operativ freigelegten Ischiadicus vorgenommen. Eine halbe Stunde nach der Applikation wurde das Tier in Narkose getötet und der Nerv entnommen. Nach Fixierung entsprechend den obigen Angaben konnten einwandfreie histologische Präparate angefertigt werden. Dabei zeigte sich in Übereinstimmung zu den Befunden von Spitzer und Loos,

daß die Ausbreitung des Farbstoffes hauptsächlich innerhalb des lockeren Bindegewebes und der Saftspalten geschieht. Diese macht sich an einer intensiven Gelbfärbung dieser Bezirke bemerkbar. Im normalen Präparat weisen dagegen alle Bindegewebselemente eine hellblaue Fluoreszenz auf. Nach Einführung des Farbstoffes erfolgt auch eine Anfärbung der Markscheiden bis zu einem gewissen Grade, die in einem Umschlag des normalerweise dunkelblauen Farbtones in eine grünlichblaue Verfärbung zum Ausdruck kommt. Die Achsenzylinder selbst verhalten sich am unbehandelten Nerven und nach der Einführung des Farbstoffes hinsichtlich ihrer Färbung gleichmäßig. Sie sind in den verschiedenen mikroskopischen Bildern stets dunkelviolett bis schwarz tinguiert. Eine Eigenfluoreszenz besitzen sie offenbar nicht.

Die Stelle der Fortleitung des C. muß nach diesen Ermittlungen im lockeren Bindegewebe und in den Gewebsspalten des Nerven gesucht werden. Eine Übertragung dieser Versuchsergebnisse auf die Befunde am Frosch ist aber nicht ohne weiteres möglich, da bei der intraneuralen Einführung des Farbstoffes in den Versuchen am Kaninchen völlig andere Versuchsbedingungen als bei der intramuskulären Zufuhr im Froschversuch bestehen. Es blieb daher zu prüfen, ob auch bei diesen Versuchen der Transport des C. auf den Lymph- und Saftbahnen vor sich geht.

II.

Durch die Untersuchungen von Joseph[33], Joseph und Melzer[34], sowie Abel und Mitarbeitern[35, 36] ist bekannt, daß die Lymphherzentätigkeit für die Verteilung von Farbstoffen und Giften von ausschlaggebender Bedeutung ist, so daß bei Ausschaltung des Kreislaufsystems sogar kleinere Dosen krampferregender Stoffe eine toxische Wirkung entfalten als bei Aufrechterhaltung der Herzfunktion. Diese Beobachtung versuchten wir für die eigenen Untersuchungen nutzbar zu machen, indem bei der Zufuhr des Farbstoffes in den isolierten Unterschenkel unter Belassung des Ischiadicus als einzige Verbindung zwischen Rumpf und operierter Extremität zusätzlich noch eine operative Entfernung der beiden hinteren Lymphherzen vorgenommen wurde. Das Resultat dieser Versuche fiel uneinheitlich aus. In der Mehrzahl der Untersuchungen blieb die Weiterleitung des Farbstoffes im Nerven aus, so daß der freigelegte Nervenabschnitt selbst nach 4—6stündiger Beobachtungsdauer ein völlig normales Verhalten zeigte. In anderen Fällen erfolgte das Vordringen des Farbstoffes langsamer, so daß der freiliegende Anteil des Ischiadicus nur teilweise den charakteristischen Umschlag des Fluoreszenzfarbtones infolge Anwesenheit des Farbstoffes aufwies. Andere Präparate ließen dagegen

[33] Joseph, D. R.: J. Pharmacol. (Am.) **6**, 83 (1914). — [34] Joseph u. Melzer, S. J.: Ebenda **3**, 183 (1911/12). — [35] Abel, J. J.: Ebenda **3**, 581 (1911/1912). — [36] Abel, J. J., u. B. B. Turner: Ebenda **6**, 91 (1914).

eine Behinderung der Farbstoffwanderung trotz Zerstörung der Lymphherzen vermissen.

Es mußte daher ein anderer Weg gesucht werden, um die Frage nach der Stelle der Farbwanderung im Nerven zu klären. Diesen Versuchen lag folgende Überlegung zugrunde. Wenn der Transport des Farbstoffes ausschließlich auf die Lymphräume der peripheren Nervenstränge beschränkt ist, so muß die Möglichkeit bestehen, diesen Wanderungsvorgang des Farbstoffes wenigstens teilweise aufzuhalten, falls es gelingt, die Bindegewebsspalten zu verlegen oder mindestens durch die Einführung adsorptiv wirkender Stoffe in diese Räume dem Vordringen des Farbstoffes gewisse Schranken zu setzen. Wir wählten hierzu Tusche und Thorotrast, mit denen bekanntlich eine Blockade des Reticuloendothels zu erzielen ist. Außerdem liegen von Saito, Kamikawa u. Kato[37, 38] günstige Berichte über die Verwendungsmöglichkeit von Thorotrast zur röntgenologischen Darstellung des Verlaufes peripherer Nervenbahnen vor. Es handelt sich auch dabei um eine Weiterleitung der Kontrastflüssigkeit über den eigentlichen Ort der Injektion hinaus, so daß die mit Thorotrast behandelten Nervenstränge über eine große Strecke bildmäßig erfaßt werden können. Nach Miura[39] erreicht die Ausdehnung des Thorotrast 1—2 Stunden nach der Injektion ihr Maximum. Von diesem Zeitpunkt an bleibt das Röntgenbild des Nerven unverändert über einen Zeitraum bis zu 120 Tagen, indem der Verlauf des Nerven gleichmäßig röntgenologisch projizierbar bleibt. Diese Methodik erwies sich in den eigenen Versuchen auch für den Frosch brauchbar. Bei intraneuraler Zufuhr des Thorostrats kam der Ischiadicus im Röntgenbild von der Stelle der Injektion dicht oberhalb des Knies mindestens im Verlauf des ganzen Oberschenkels, zumeist sogar bis zum Eintritt in das Rückenmark regelmäßig zur Darstellung. Dieser Befund war auch nach 8 bzw. 14 Tagen bei der Röntgenkontrolle im gleichen Umfange zu erheben.

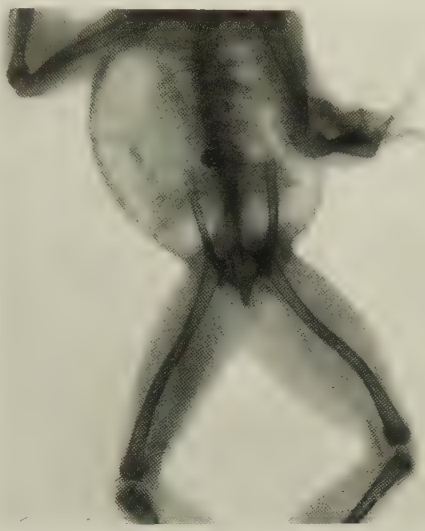


Abb. 1. Röntgenaufnahme: 24 Stunden nach intraneuraler Injektion von 0,1 ccm Thorotrast. Die Aufnahme 8 Tage später zeigte ein identisches Bild.

---

[37] Saito, M.: Wien. Klin. Wschr. **1933**, S. 827; Rev. neur. (Fr.) **40**, 1169 (1933); Amer. J. Surg. **26**, 300 (1934.) — [38] Saito, M., K. Kamikawa u. K. Kato: Ebenda **22**, 78 (1933). — [39] Miura, O.: The Tohoku J. **31**, 306 (1937).

Abgesehen von geringfügigen Veränderungen der Markscheidenform ist nach Ischimura[40] das Thorotrast praktisch für den Nerven unschädlich und ohne Nebenwirkung auf die Nervenfunktion. Der Nerv selbst zeigt nach den Angaben Ischimuras im mikroskopischen Bild keine Anzeichen einer Entzündung. Miura[39] fand dagegen innerhalb der Nerven leichte Entzündungsprozesse, die er auf die Anwesenheit des Thorotrast zurückführt. In den eigenen kurzfristigen Versuchen, bei denen 24 Stunden nach der Zufuhr des Thorotrast die Nerven zur histologischen Untersuchung präpariert wurden, war ein pathologischer Befund nicht zu erheben. Auch die Lauf- und Sprungfähigkeit der Frösche war in keinem Falle behindert, selbst bei einer Beobachtungsdauer der Tiere nach der Zufuhr der Kontrastflüssigkeit über einen Zeitraum von 2 und 3 Wochen. Das Thorotrast

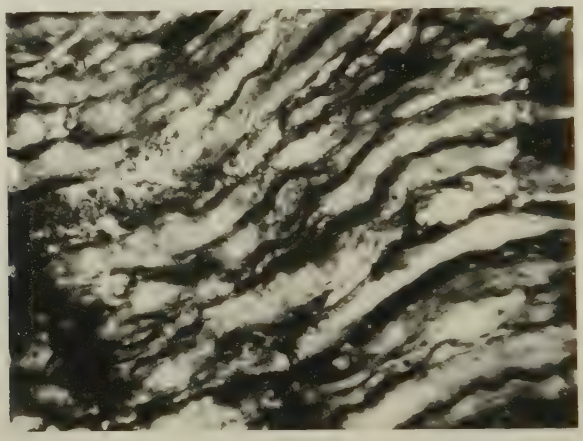


Abb. 2. Einlagerungen von Tusche in den Ischiadicus des Frosches (Paraffineinbettung). 24 Stunden nach der Injektion. 400fache Vergrößerung. Haematoxylin-Eosin-Färbung.

liegt nach den Angaben der Literatur und den eigenen Ermittlungen teils in feinen Körnchen, zumeist aber in größeren Klümpchen und Platten innerhalb der Bindegewebsräume, wobei der Nerv über weite Strecken mit diesen Ablagerungen angefüllt ist. Zur Kenntlichmachung des Thorotrast diente eine von Prüsener[41] angegebene Methodik, bei der Bestsches Carmin zur Färbung des Thorotrast verwendet wird.

Bei der Injektion von Tusche in den Ischiadicus des Frosches wurden gleichartige Befunde erhoben. Auch hierbei trat eine nachweisbare Schädigung der Nervenfunktion nicht ein. Ebenso waren in den histologischen Präparaten (Paraffineinbettung) keine Anzeichen einer entzündlichen Reaktion vorhanden. Die Tusche fand sich im Innern der erweiterten Bindegewebsspalten und außerhalb der Endoneuralscheiden. Sie war

[40] Ischimura: Tokyo Izi Sinsi **1933**, Nr. 2810; zit.: Ib. Heyden **1938**, S. 122. — [41] Prüsener, L.: Beitr. path. Anat. **91**, 439 (1933).

zumeist in größeren Mengen zusammengeballt, daneben auch in feiner Verteilung zu einzelnen Körnchen insgesamt regellos über eine längere Strecke des Nerven angeordnet. Auch diese Tuschefüllung blieb über einen längeren Zeitraum in gleichmäßiger Stärke bestehen.

Im Anschluß an diese Ergebnisse konnten die eigentlichen Versuche in Angriff genommen werden, bei denen geprüft wurde, ob eine derartige Ablagerung von Thorostrat bzw. Tusche innerhalb der Bindegewebsspalten der peripheren Nerven auf die Fortleitung des untersuchten Farbstoffes einen Einfluß auszuüben vermag.

Zu den Farbstoffversuchen wurde den Fröschen in Narkose 24 Stunden vor der Injektion des C. Tusche bzw. Thorotrast in den Ischiadicus oberhalb der Kniekehle appliziert. Die Farbstoffzufuhr erfolgte am dekapitierten Tier in den Unterschenkel nach Ausführung der üblichen Operation unter Freilegung des Ischiadicus und Entfernung jeder weiteren Verbindung mit Ausnahme des Knochens zwischen Rumpf und Unterschenkel. Der mit Thorotrast vorbehandelte Nerv zeigte bei einer Betrachtung des isolierten Ischiadicus im Fluoreszenzmikroskop, daß der Farbstoff trotzdem innerhalb von 6 Stunden zu wandern vermag. Zu diesem Zeitpunkt war auch zumeist im Ischiadicus des anderen Beines Farbstoff in geringen Mengen festzustellen. Die Intensität der Färbung war im allgemeinen deutlich geringer als bei den unvorbehandelten Tieren. Nach Tuscheapplikation in den Nerven kam dagegen in keinem Falle ein Vordringen des Farbstoffes zustande, nur in dem distal von den tuschehaltigen Bezirken liegenden Anteil des Nerven war der Farbstoff vorhanden.

Zur Kontrolle dieser Befunde wurden Versuche am Kaninchen durchgeführt, bei denen C. direkt intraneural in den Ischiadicus injiziert wurde, nachdem zuvor der Nerv bereits oberhalb der Stelle der Farbstoffinjektion mit Tusche bzw. Thorotrast angefüllt war. Hierbei zeigte sich, daß ein Vordringen des Farbstoffes oberhalb der Tusche nie eintrat. Der Nerv wies ebenso wie ein normaler Ischiadicus in diesen Bezirken Blaufluoreszenz auf. Eine Gelbfluoreszenz als Folge der Farbstoffinjektion war nur in den Teilen unterhalb der tuschehaltigen Bezirke eingetreten. Beim Thorotrast waren teilweise geringe Mengen Farbstoff auch in den Nervenpartien oberhalb der Thorotrastablagerung eingedrungen. Im allgemeinen erwies sich jedoch das Thorotrast auch in den Kaninchenversuchen als ein geeignetes Blockademittel für den Farbstoff.

Die Erklärung für die Befunde am Frosch boten die Ergebnisse, die bei der Ultrafiltration von Farbstoff-Tusche bzw. Farbstoff-Thorotrastgemischen erzielt wurden. Dabei fand sich, daß der Farbstoff von der Tusche derart stark adsorbiert wird, daß das Ultrafiltrat völlig ungefärbt bleibt. Bei der Untersuchung von Thorotrast-Farbstoffgemischen ist dagegen das Ultrafiltrat in gleicher Stärke gefärbt wie die Ausgangslösung. Analog ist im Tierexperiment die Tusche imstande, die Passage des Farbstoffes

innerhalb des Nerven zu hemmen, während Thorotrast in dieser Hinsicht zum Teil versagt.

Es ergibt sich somit aus den eigenen Befunden, daß die Fortleitung des C. über die peripheren Nervenstämme innerhalb der Bindegewebsräume und der Saftspalten des Nerven stattfindet. Dieser Ausbreitungsmodus besitzt anscheinend auch für das intakte Tier eine gewisse Bedeutung. Bei Injektion des Farbstoffes in den Unterschenkel operativ nicht vorbehandelter Tiere war festzustellen, daß der Farbstoff außerhalb des Injektionsortes nicht nur im Blutgefäßsystem, sondern auch in den peripheren Nervensträngen beider unteren Extremitäten sowie im Rückenmark in stärkerem Grade vorhanden war.

Zusammenfassung.

Für den Farbstoff Coriphosphin konnte am Frosch mittels des Fluoreszenzmikroskops eine Wanderung innerhalb der peripheren Nervenbahnen nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu den Untersuchungen von Spitzer und Loos, die bereits über eine Ausbreitung dieses Farbstoffes im peripheren Nervensystem nach intra- und paraneuraler Injektion berichten konnten, erfolgte die Zufuhr des Coriphosphins in den eigenen Versuchen intramuskulär. Die histologischen Befunde und die Behinderung des Vordringens des Farbstoffes bei Blockade der Bindegewebsräume des Nerven zeigen, daß der Vorgang der Farbstoffausbreitung an die Lymph- und Saftbahnen der peripheren Nervenstränge gebunden ist.

Herrn Prof. Dr. Ch. J. Keller möchte ich für die freundliche Überlassung des Fluoreszenzmikroskops und Herrn Dozenten Dr. Bargmann und Dr. Bachmann für die Hilfe bei der Durchsicht der mikroskopischen Präparate meinen besten Dank aussprechen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Zum Wirkungsmechanismus cholinergischer Stoffe. II.

Von

Fritz Jung.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Oktober 1940.)

I.

In der vorangehenden Mitteilung (1) war über Versuche berichtet worden, nach welchen ein unbedingter Kausalzusammenhang zwischen cholinergischer Wirkung und einem Potential im Sinne der Theorie von Straub in Frage gestellt wurde. Bei der weiteren Verfolgung dieses Problems konnte ein Befund erhalten werden, der zwar mit den früheren Versuchen in keinem direkten Zusammenhang steht, der jedoch für die ganze Fragestellung nicht unwichtig ist.

Bei meinen Versuchen am elektrisch gereizten Froschventrikel prüfte ich den Einfluß verschiedener Stoffe auf die Wirkungsintensität und den Wirkungsablauf des Carbaminoylcholins. Unter anderen verwandte ich auch Cholin, das, obwohl selbst cholinergisch wirksam, überraschenderweise die Carbaminoylcholinwirkung sehr stark hemmte. Dieselbe Hemmung ließ sich aber auch für die Azetylcholinwirkung zeigen. Ein Antagonismus Cholin-Azetylcholin ist nun aber besonders interessant, weil im physiologischen Geschehen überall, wo Azetylcholin wirksam wird, infolge der Spaltung durch Cholinesterase auch Cholin auftritt.

Die verwandte Methodik ist in der vorangehenden Mitteilung (1) bereits beschrieben. Einzelne Versuche wurden auch am spontan schlagenden Froschherzen nach Straub durchgeführt.

II. Hemmung der Wirkung von Azetyl- und Carbaminoylcholin durch Cholin.

Zu den Versuchen wurde Azetylcholin-Roche und Carbaminoylcholin-Merck (Doryl) verwandt. Es handelt sich dabei — ebenso wie bei dem gebrauchten Cholin — um die salzsauren Salze. Die wirksamen Stoffe wurden in Tyrodelösung gelöst und im Versuch diese Lösung mit der normalen Herzinnenflüssigkeit vertauscht.

Eine Cholinkonzentration von $10^3\,\gamma$/ccm, die selbst nur eine schwach negativ inotrope Wirkung auf das Herz ausübt, verminderte bereits sehr eindrucksvoll die Wirkung von Azetylcholin (vgl. Abb. 1). $6 \cdot 10^{-3}\,\gamma$/ccm Azetylcholin verringerten allein die Hubhöhe bedeutend stärker als dieselbe Menge in Gegenwart des Cholins. Die Wirkung entsprach etwa nur noch

der von $2 \cdot 10^{-3}$ γ/ccm Azetylcholin. Die hemmende Wirkung zeigte sich an den einzelnen Herzen etwas verschieden; in den meisten Versuchen war sie noch etwas größer als in dem dargestellten Fall. In diesem war die Cholinkonzentration etwa 10^5mal größer als die des Azetylcholins.

Abb. 2 zeigt einen Versuch mit Carbaminoylcholin. Die Hemmung der cholinergischen Wirkung war noch viel ausgesprochener als beim Azetylcholin. In diesem Falle war die eigentliche Cholinwirkung am Froschherzen kaum sichtbar. Wurde während des Einwirkens von Doryl zusätzlich Cholin gegeben, so verminderte sich die Wirkung augenblicklich sehr beträchtlich: Abb. 3. In diesem Falle wurde, wie aus dem Anfangsteil

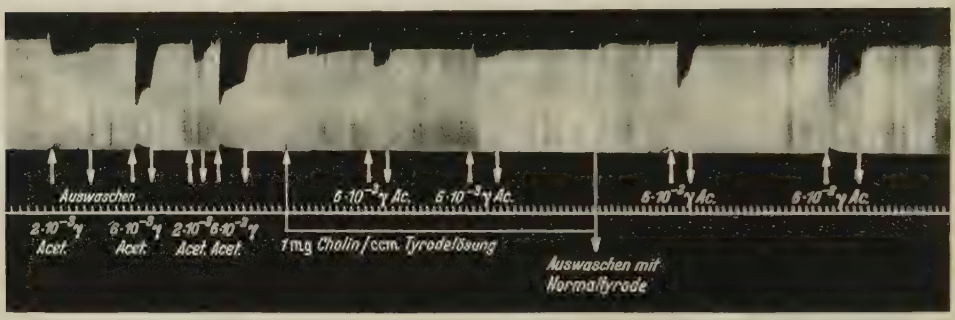


Abb. 1. Hemmung der Wirkung des Azetylcholins durch Cholin. Ac. oder Acet. = Azetylcholin. ▲ = Zusatz der Giftlösungen. ▼ = Auswaschen.

Abb. 2. Hemmung der Dorylwirkung durch Cholin. *D* = Doryl. Pfeile wie Abb. 1.

der Abbildung hervorgeht, durch $2 \cdot 10^3$ γ/ccm Cholin die Wirkung von 0,14 γ/ccm Doryl fast völlig aufgehoben. Das Konzentrationsverhältnis war hier also etwa 10^4.

III. Aufhebung eines Vagusreizes durch Cholin.

Ein künstlich gereizter Froschventrikel befindet sich keineswegs unter physiologischen Verhältnissen. Deshalb wurde auch die Beeinflussung des Vagusreizes untersucht. Verwandt wurde das Straubsche Präparat mit erhaltenem Vago-Accelerans, der mit einem Induktorium gereizt werden konnte.

Wie sich aus Abb. 4 ergibt, tritt auch in diesem Falle die Hemmung des „cholinergischen" Reizes deutlich hervor. Kurze Zeit nach Zugabe des Cholins ($2 \cdot 10^3$ γ/ccm) wurde auf Reizung kein Herzstillstand mehr erhalten, sondern sogar eine Beschleunigung. (Solange das Herz noch unter der Einwirkung des Cholins stillsteht, ist dementsprechend nach Reizung des Vago-Accelerans ein Wiederbeginn des Schlagens zu beob-

Abb. 3. In der Mitte Hemmung der Dorylwirkung durch Cholin. Rechts Aufhebung bestehender Dorylwirkung durch Zugabe von Cholin. D = Doryl. Pfeile wie Abb. 1.

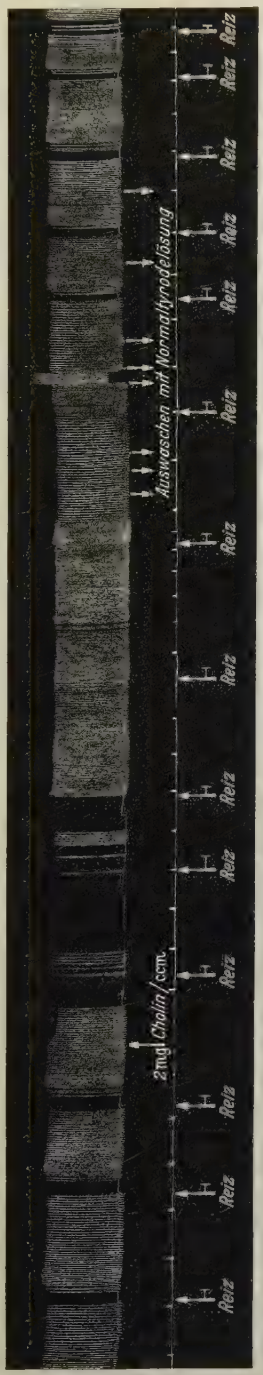


Abb. 4. Aufhebung des Vagusreizes durch Cholin. ⌜⌟ Beginn und Dauer der Vagusreizung.

achten.) Eine sehr auffällige Erscheinung ergab sich beim Auswaschen des Cholins. Während der negativ inotrope Effekt desselben, wie auch jedes anderen cholinergischen Stoffes, nach dem Auswaschen sofort schwindet, läßt sich die hemmende Wirkung gegenüber dem Vagusreiz nur durch wiederholtes gründliches Waschen entfernen. Es dauerte regelmäßig einige Minuten, bis wieder ein normaler Reizerfolg, nämlich negativ ino- und chronotrope Wirkung zu sehen war.

IV. Besprechung.

a) Schon Kahlson (5) hatte bei seiner Analyse des Wirkungsmechanismus des Cholins eine veränderte Erregbarkeit des Herzmuskels bemerkt. Während der Anwesenheit des Cholins, auch nach dem Schwinden der „cholinergischen" Wirkung, ist die Chronaxie beträchtlich verlängert. Er betont daher auch, daß die Wirkung des Cholins keineswegs nur in der sogenannten „cholinergischen" negativ inotropen Beeinflussung der Herztätigkeit bestehe, sondern daß ein Dauereffekt vorhanden sei, der unabhängig vom Potentialwirkungsmechanismus des ersten ablaufe. Auch aus meinen Versuchen folgt eine doppelte Wirkung des Cholins, nämlich eine rasch reversible cholinergische und eine langsamer reversible Beeinflussung der Erregbarkeit.

Die weitere Beobachtung von Kahlson (5), daß nämlich dem Cholin unter Umständen nach Aufhören der negativ inotropen Wirkung — nach Ausgleich des Potentials — eine positiv inotrope Wirkung zukommt, läßt sich vielleicht heute durch eine Verknüpfung der Befunde mit den Ergebnissen von Runcan (6) erklären. Die von Runcan (6) unter Umständen gefundene Dämpfung der Herztätigkeit, die auf einem Einströmen von Azetylcholin in die Herzinnenflüssigkeit beruhen mag, könnte wohl auch durch Cholin verhindert werden. Nach dem Ablauf der negativ inotropen Wirkung einer Cholinverabreichung könnte dann unter dem Cholineinfluß auch eine etwaige anfängliche Azetylcholindepression des Herzens geschwunden sein; so ergibt sich eine Steigerung der Hubhöhe, die man unbefangen zunächst dem Cholin zuschreiben würde.

b) Die antagonistische Wirkung des Cholins gegenüber Azetyl- und Carbaminoylcholin erinnert an frühere Untersuchungen von Külz (2). Raventos (3) u. a. (1), nach denen sich viele, besonders auch körperfremde quartäre Ammoniumbasen in ihrer cholinergischen Wirkung nicht synergistisch, sondern antagonistisch verhalten.

c) Manche der quartären Ammoniumbasen zeigen auch curareartige Wirkungen und es ist natürlich reizvoll, diese mit der cholinergischen Wirkung und mit den Gesetzmäßigkeiten, die die Antagonismen beherrschen, in einen sinnvollen Zusammenhang zu bringen. Unseren heutigen Kenntnissen nach ist das Azetylcholin an irgendeiner Stelle zwischen Nerv und Erfolgsorgan als Vermittler des Reizes eingeschaltet. Die Wirkung des Curare läßt sich daher fast zwanglos als Grenzfall eines solchen Antagonismus betrachten. Wir haben nun eine deutliche Beeinflussung der Wirkung des Azetylcholins durch Cholin gesehen und so wird es in diesem Zusammen-

hang sehr interessant, daß Bacq und Brown (4) am Skeletmuskel Anzeichen einer curareartigen Wirkung des Cholins beobachtet haben. Ebenso wie durch intraarterielle Injektion von Azetylcholin konnten sie auch durch Verabreichung von Cholin eine Zuckung des Skeletmuskels erzielen. Während aber nach einer Azetylcholinzuckung die normale Erregbarkeit des Muskels auf den natürlichen Nervenreiz erhalten ist, kommt es nach Cholin zu einer langsam eintretenden, deutlichen und nur langsam wieder schwindenden Verminderung der Ansprechbarkeit. Möglicherweise ist daher das von Bacq und Brown am Skeletmuskel gefundene und das hier berichtete Phänomen am Herzmuskel identisch.

d) Es fragt sich nun noch, ob die Hemmung des Azetylcholins durch Cholin, wie wir sie hier gesehen haben, im physiologischen Geschehen eine Rolle spielen könnte. Nach dem Verhältnis der für die Effekte erforderlichen Konzentrationen erscheint diese Möglichkeit von vornherein nicht sehr wahrscheinlich, selbst wenn man die relativ langsame Elimination des Cholins in Rechnung setzt.

Eine eingehendere Untersuchung der hier angeschnittenen Fragen soll zu gegebener Zeit erfolgen.

Zusammenfassung.

1. Die negativ inotrope Wirkung von Azetylcholin und Carbaminoylcholin am Froschherzen wird durch Cholin gehemmt.

2. Ebenso wird bei Anwesenheit von Cholin der Effekt einer Vagusreizung an diesem Objekt unterdrückt.

Literatur.

1) Jung, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 302 (1940). — 2) Külz: Ebenda **98**, 339 (1923). — 3) Raventos: J. Physiol. (Brit) **88**, 5P (1936/37). — 4) Bacq u. Brown: Ebenda **89**, 45 (1936). — 5) Kahlson: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 44 (1932). — 6) Runcan: Ebenda **195**, 516 (1940).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über die Nikotinaufnahme aus Kautabak*.

Von

Dietrich Gaede.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 14. November 1940.)

Eine allgemeine Anschauung geht dahin, daß der Aufnahme des Nikotins beim Tabakgenuß meist eine größere Abgabe unveränderten Nikotins unverzüglich folgt, so daß nur ein kleiner Bruchteil des Giftes im Körper verbleibt. So glaubt man, daß mit der Ausatmung ein großer Teil des Nikotins im Tabakrauch den Körper verläßt; vielfache Untersuchungen haben aber nachgewiesen, daß dies nur der Fall ist, wenn nicht inhaliert wird. Bei der Inhalation dagegen sind auf Grund der großen Lungenoberfläche und des großen Weges, den der Rauch zurücklegen muß, die Resorptionsbedingungen außerordentlich günstig, so daß das Nikotin bei starker Inhalation nahezu vollständig aufgenommen wird. Beim Kautabak wird angenommen, daß durch das Spucken das schädliche Agens vor der Resorption entfernt wird. Wenn auch ursprünglich das Spucken beim Seemann mit der Grund des „Stiftens" sein mag, wenn er an der Reeling steht, so spielt sich doch heute die allgemein übliche Form des Stiftens ohne Spucken ab: die Tabakstücke werden in die Backentaschen eingebracht und hier belassen, bis der Stift nicht mehr zieht. Selten wird dabei der Tabak gekaut, viel häufiger wird nur ein wenig gesogen, um den erwünschten Saft über die Geschmacksknospen rinnen zu lassen. Am meisten verbreitet ist heute das Tabakkauen unter der Bergwerksbevölkerung, sowie in Berufen, in denen aus Betriebsrücksichten sich das Rauchen von selbst verbietet. Viele ältere Arbeiter, vor allem auch aus der landwirtschaftlichen Bevölkerung stiften; auch Ärzte, die lange über Land fahren oder bei Geburten sitzen müssen. Die Gewohnheit besteht meist seit vielen Jahren, im allgemeinen bereits von der Lehrzeit an. Dabei werden gewöhnlich Tabakmengen von 0,5—1,0 g in den Mund genommen, die bei sparsamen Kauern den ganzen Tag reichen und nicht beim Frühstück, wohl aber bei den Hauptmahlzeiten für kurze Zeit vorübergehend abgelegt werden. Wenn der Tabak im Laufe des Tages nicht mehr recht kräftig ist, so wird er mitunter durch ein kleines neues Stück Tabak angefrischt. Bei Befragen der betreffenden „Fachleute" erhält man — wie auch bei Menschen, die den Tabak auf andere Weise genießen — die Ant-

* Ausgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

wort, daß dem Körper etwas fehle, wenn aus irgendwelchen Gründen für eine gewisse Zeit nicht gekaut werden kann; man sei dann nicht so der rechte Kerl, man fühle sich schlapp. Viele geben sogar eindeutig zu, daß sie jedesmal beim Kauen eine Erfrischung und Kräftigung verspüren.

Aus diesen Beobachtungen sind Hinweise zu entnehmen, die auf eine stärkere Nikotinresorption hindeuten. Manche Lehrbücher sind auch heute noch der Ansicht, daß der Kautabak wenig Nikotin enthält, doch ist gerade das Gegenteil der Fall: der Kautabak gehört zu den nikotinreichen Formen des gebrauchsüblichen Tabaks; hierauf wies bereits König (1) hin, indem er den Nikotingehalt zwischen 2 und 5 % ermittelte, also einen weit höheren Gehalt als in den Zigaretten- und meisten Zigarrentabaken; man kann sagen, daß der Nikotingehalt vom Kautabak im Durchschnitt dem der nikotinreicheren Zigarren und Pfeifentabake entspricht. Wie in der Arbeit von W. Heubner und J. Papierkowski (2) ausgeführt wird, gelangen somit beim Priemen durchschnittlich 20 mg Nikotin in den Mund des Tabakkauers. Wie in einer späteren Arbeit für den Schnupftabak zu zeigen sein wird, sind die Resorptionsverhältnisse für das Nikotin durch die Schleimhäute außerordentlich günstig, so daß angenommen werden muß, daß die 20 mg zum größten Teil über das Gebiet der Vena cava superior in den Kreislauf gelangen; der Portalkreislauf, bei dem man mit einer Abfangwirkung der Leber rechnen könnte, spielt nur für die sicher geringen Mengen verschluckten Tabaksaftes eine Rolle, da die Speichelsekretion eine Folge der Resorption von Nikotin oder begleitender Agentien ist.

Auch die Dissertation von Arnoldt (3) enthält Angaben über die Schleimhautresorption des Nikotins; hier wird berichtet, daß 10 g Tabak rectal tödlich wirkten. Aus der gleichen Arbeit entnehmen wir interessante Einzelheiten über eine Vergiftung mit Kautabaksaft, einer Flüssigkeit, die zum Anfeuchten des Tabaks von einem Händler vorrätig gehalten und in einem Falle, der zum Tode führte, als Schnaps ausgeschenkt wurde; bei der Autopsie wurde aus den Organen etwa 20 mg Nikotin wiedergefunden, d. h. schätzungsweise die gesamte verabfolgte Nikotinmenge.

Auch für die orale Aufnahme des Nikotins gilt also das Gesetz, daß die Giftigkeit nicht allein durch die Menge des aufgenommenen Alkaloids, sondern auch, und zwar in erster Linie, durch die Geschwindigkeit der Aufnahme bedingt ist.

Meine Versuche sollten einen Aufschluß über die Größe und über die Geschwindigkeit der Nikotinaufnahme aus Kautabak geben. Die Versuche wurden mit dem handelsüblichen Produkt „Doms Gabelbissen Nr. 7“ mit zwei Versuchspersonen, die seit der Jugend Tabakkauer sind, durchgeführt. Der Tabak wird in dünnen Rollen in gut verschlossenem Zustande geliefert, so daß eine gewisse Gleichmäßigkeit der Waren gegeben ist; das erscheint wichtig, da einerseits der Feuchtigkeitsgehalt sehr groß ist (um 40 %) und andererseits außer dem Gewichtsverlust durch das Trocknen auch ein erheblicher Nikotinverlust eintreten würde. Die Herstellerfirma

gibt das Stiftgewicht mit 0,7 g an, die Wägung meiner Proben ergab etwa 0,6 g; eine Probe, die ein Jahr in der Originalpackung aufgehoben worden war, wog im Durchschnitt nur noch 0,4 g.

Methodik.

Die Hauptmenge des Tabaks entstammt einem größeren Posten, der in einem Laden in Berlin gekauft wurde; hiervon wurden je 10-g-Proben abgeteilt und bis zum Versuch in Wägegläsern unter Paraffinverschluß aufbewahrt. Jede Probe bestand aus 16 bis 17 einzelnen Stiften. Für jede Probe wurde eine bestimmte Kaudauer mit der Versuchsperson vereinbart; die denn für jeden einzelnen Stift eingehalten wurde; die abgelegten Tabakreste von je 10 g Tabak bzw. 16 bis 17 Stiften wurden gesammelt und zusammen auf ihren Nikotingehalt untersucht. Zur Nikotinbestimmung wurde die Pikratfällung im Wasserdampfdestillat mit anschließender Titration der gebundenen Pikrinsäure nach dem Verfahren von Koenig (4) ausgeführt. Zur Bestimmung des Nikotingehalts der Handelsware wurden einzelne Proben des Tabaks in gleicher Weise analysiert. Aus der Differenz des Nikotingehalts im Ausgangsmaterial und den Tabakresten wird die Größe der Aufnahme berechnet.

Ergebnisse.

1. Nikotinbestimmungen in der Handelsware „Doms Gabelbissen".

Versuch Nr.	Analyse am	% Nikotin	Versuch Nr.	Analyse am	% Nikotin
1	20. XII. 1938	2,32	3	17. I. 1939	2,49
2	13. I. 1939	2,58	10	5. IV. 1939	2,38

Aus den vier Bestimmungen — mit je 10 g Proben durchgeführt — ergibt sich ein Gehalt von 2,44 % Nikotin. Ein Stift, zu 0,6 g Gewicht gerechnet, enthält also 15 mg Nikotin.

2. Nikotinbestimmungen in den Tabakresten nach verschieden langer Kaudauer.

a) Versuchsperson N., Tierwärter im Institut.

Kauzeit: 1 Stunde.

Versuch Nr.	Analyse am	% Nikotin	Versuch Nr.	Analyse am	% Nikotin
22	11. VII. 1939	1,68	24	11. VII. 1939	1,48
23	11. VII. 1939	1,74	25	11. VII. 1939	1,65

Mittelwert für den Nikotingehalt der Tabakreste nach einstündiger Kaudauer 1,64 %. Es sind also bei einer Kauzeit von 1 Stunde 33 % des

Nikotins, also etwa 5 mg — wenn ein Stift gekaut wurde , aufgenommen worden.

Kauzeit: 2 Stunden.

Versuch Nr.	Analyse am	% Nikotin	Versuch Nr.	Analyse am	% Nikotin
6	23. II. 1939	1,47	15	8. VII. 1939	1,29
7	27. II. 1939	1,06	16	10. VII. 1939	1,43
9	21. III. 1939	1,01	17	10. VII. 1939	1,47
14	29. V. 1939	1,19	18	10. VII. 1939	1,27

Mittelwert für den Nikotingehalt der Tabakreste nach zweistündiger Kaudauer 1,27 %. Es sind also bei einer Kauzeit von 2 Stunden annähernd 50 % des Nikotins, d. h. etwa 7,5 mg Nikotin, aufgenommen worden.

Kauzeit: 4 Stunden.

Versuch Nr.	Analyse am	% Nikotin	Versuch Nr.	Analyse am	% Nikotin
11	4. V. 1939	0,96	19	10. VII. 1939	1,19
12	4. V. 1939	0,99	20	10. VII. 1939	1,04
13	29. V. 1939	0,85	21	11. VII. 1939	1,00

Mittelwert für den Nikotingehalt der Tabakreste nach vierstündiger Kaudauer 1,01 %. Es sind also bei einer Kauzeit von 4 Stunden 60 % des Nikotins, aus einem Stift etwa 9 mg Nikotin aufgenommen worden.

Kauzeit: 8 Stunden.

Versuch Nr.	Analyse am	% Nikotin
4	3. II. 1939	0,26
5	13. II. 1939	0,23

Mittelwert für den Nikotingehalt der Tabakreste nach achtstündiger Kaudauer 0,245 %. Es sind also bei einer Kauzeit von 8 Stunden 90 % des Nikotins, demnach aus einem Stift etwa 13,5 mg, Nikotin aufgenommen worden.

b) Versuchsperson S., Laborant.

Kauzeit: Etwa 4 Stunden.

Versuch Nr.	Analyse am	% Nikotin	Versuch Nr.	Analyse am	% Nikotin
26	12. III. 1940	1,00	28	12. III. 1940	1,09
27	12. III. 1940	1,13	29	12. III. 1940	1,17

Mittelwert für den Nikotingehalt der Tabakreste nach vierstündiger Kaudauer 1,10 %. Es sind also bei einer Kauzeit von 4 Stunden 55 % des Nikotins, aus einem Stift etwa 8 mg Nikotin, aufgenommen worden.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die kurvenmäßige Darstellung der Ergebnisse bei N. zeigt, daß die Nikotinaufnahme in der ersten Stunde sehr groß ist, aber im weiteren Verlauf ständig abnimmt; das Verhältnis vom jeweiligen Nikotingehalt des Tabaks im Munde zur resorbierten Menge ändert sich gleichsinnig, doch viel weniger stark. Vor allem die Resorption von 5 mg in der ersten Stunde ist außerordentlich hoch.

Zum Vergleich mit dem Rauchvorgang ziehe ich Angaben von A. Wenusch (5) heran. Beim Rauchen einer Zigarette mit 16 mg Nikotin werden unter mittelstarkem Inhalieren mit 20 Zügen insgesamt etwa 1,6 mg Nikotin aufgenommen; mit jedem Zug gelangen somit 0,08 mg in den

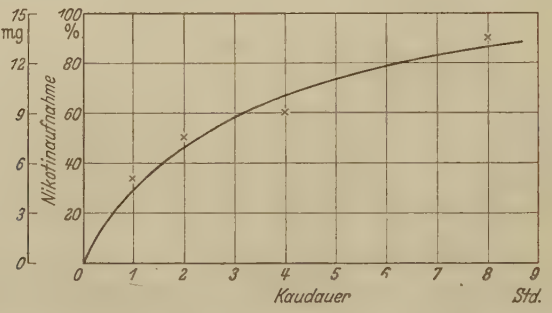


Abb. 1. Nikotinaufnahme beim Tabakkauen. Versuchsperson N. (Analysen unter a)

Organismus, $^4/_5$ davon, also 0,064 mg, werden in der Lunge aufgenommen. Da der Rauch während einer halben Atempause in der Lunge verweilt, wird diese Menge auf zwei Systolen des Herzens treffen und somit zwei Schlagvolumina, also 120 g Blut, mit Nikotin beladen. Hieraus ergibt sich, daß Blutwellen mit einer Nikotinkonzentration von etwa 1 : 2000000 das arterielle System durchlaufen. Diese Konzentration bewirkt bereits am Blutegelmuskel eine Kontraktion; die Blutdrucksteigerung beim Rauchen kann also durch peripheren Angriff stoßweise ins arterielle System gelangender Nikotinmengen erklärt werden.

Legt man für eine Vergleichsberechnung beim Kauen die Resorption von 5 mg in der ersten Stunde zugrunde, so würde im gleichen Zeitraum, wie er oben angenommen wurde, d. h. in $^1/_{40}$ min, nur 0,002 mg Nikotin aufgenommen werden, also sehr viel weniger als während der Inhalationsphase beim Rauchen. Da aber beim Kauen die Resorption wahrscheinlich kontinuierlich erfolgt, beträgt die durchschnittliche Resorption in der Rauchzeit, nämlich 10 min, 0,83 mg Nikotin, also die Hälfte von der beim inhalierenden Rauchen; zu Kaubeginn wird die Resorption wahrscheinlich noch größer sein. Die subjektiv als Kräftigung empfundene Wirkung des Kautabaks wird also weniger durch periodisch hohe Nikotinkonzentrationen im Blut zu erklären sein.

Beim Rauchen und Kauen hat das Nikotin verschiedene Resorptionswege: beim (inhalierenden) Rauchen geht das Nikotin sofort in das arterialisierte Blut der Lunge und unvermischt ins linke Herz über; beim Kauen ist das Quellgebiet der Vena cava superior der Resorptionsweg, über den das Nikotin unter Vermischung mit dem venösen Blut der unteren Körperabschnitte in den rechten Teil des Herzens gelangt, verschluckte Nikotinmengen werden überdies der Abfangwirkung der Leber unterliegen. Beim Kauen werden also die Nikotinkonzentrationen im Blute erheblich kleiner sein als beim Rauchen mit Inhalation. Die über viele Stunden anhaltende Kautabakswirkung kann durch die relativ hohe Nikotinaufnahme zu Beginn des Kauens nicht erklärt werden, vielmehr muß man hierfür bei der Resorption im Bereich der Schleimhaut ausgelöste Effekte verantwortlich machen. Das bestätigen zahlreiche Tierversuche über die Wirkung von Nikotinlösungen beim Aufbringen auf Schleimhäute, die Gegenstand einer weiteren Veröffentlichung sein werden.

Zusammenfassung.

Die Nikotinaufnahme aus Kautabak wurde untersucht.

Die Nikotinaufnahme in der ersten Stunde erfolgt schnell, späterhin langsamer; nach dem Auskauen des Tabaks, nach etwa 8 Stunden, sind 90% des Nikotins aus dem Kautabak im Körper aufgenommen. Auf die große Resorption in der ersten Stunde, 5 mg Nikotin, wird besonders hingewiesen.

Rauch- und Kauvorgang werden einander gegenübergestellt.

Literatur.

1) König, W.: Z. Unters. Leb.mitt. **59**, 407 (1930). — 2) Heubner, W., u. J. Papierkowski: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 605 (1938). — 3) Arnoldt, M.: Med. Dissert. Königsberg 1908. — 4) Koenig, P., u. W. Dörr: Z. Unters. Leb.mitt. **67**, 130 (1934). — 5) Wenusch, A.: Der Tabakrauch, S. 58. Bremen, Verlag Arthur Geist, 1939.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Hansischen Universität Hamburg.
(Direktor: Prof. Dr. E. Keeser.)

Vergleichende Untersuchungen über die pharmakologische Wirkung von Chininpräparaten und Sulfanilamidderivaten.

Von

Erich Vincke und Henry E. Never.

Mit 4 Textabbildungen (5 Einzelbildern).

(Eingegangen am 18. September 1940.)

Seit mehreren Jahrzehnten werden bei den durch Pneumokokken hervorgerufenen Pneumonien therapeutisch Chininpräparate angewendet. Durch Aufrecht[1] wurde seit 1895 die Spätbehandlung der Pneumonie in schweren Fällen mit subcutanen Chininjektionen eingeführt; er konnte dadurch eine Verminderung der Mortalität erzielen. Cahn-Bronner[2] fand dann, daß man durch Frühbehandlung der Pneumonie mit intramuskulären Chininjektionen die Dauer der Erkrankung abkürzen und ebenfalls eine Verminderung der Sterblichkeit erzielen kann. Die Befunde dieses Autors wurden von John[3], Thomas[4] u. a. bestätigt. Von Cahn-Bronner wurde später als Chininpräparat hauptsächlich das „Solvochin" verwendet, das eine 25% Chinin enthaltende Lösung darstellt, die unter Verwendung von Phenyldimethylpyrazolon als Lösungsvermittler gewonnen wird.

Die Frage, ob es sich hierbei um eine kausale oder um eine symptomatische Therapie der menschlichen Pneumonie handelt, konnte erst geklärt werden, als Morgenroth und Halberstaedter[5] an Mäusen bei Infektion mit Trypanosomen und Morgenroth und Levy[6] später auch bei einer solchen mit Pneumokokken die therapeutische Wirkung von Chinin und Chininderivaten nachweisen konnten. Es zeigte sich dabei, daß das Chinin weniger wirksam ist als das Hydrochinin und daß diese Verbindung ihrerseits wieder durch das nächst höhere Homolog, das Äthylhydrocuprein (Optochin), übertroffen wird.

Die Anwendung dieser Verbindung bei Pneumonien und anderen Pneumokokkeninfektionen konnte sich jedoch wegen ihrer unangenehmen

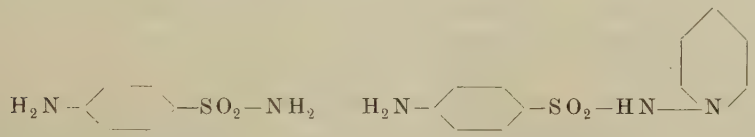
---

[1] Aufrecht, E.: Berl. klin. Wschr. **1915**, S. 104; Die Lungenentzündungen. Leipzig 1919; Ther. Mh. **33**, 41 (1919). — [2] Cahn-Bronner, C. E.: Erg. inn. Med. **21**, 420 (1922); Therapie der Gegenwart **66**, 338, 384 (1925); **68**, 97 (1927). — [3] John, M.: Dtsch. med. Wschr. **1923**, S. 380. — [4] Thomas: Amer. J. med. Sc. **166**, 877 (1923). — [5] Morgenroth, J., u. L. Halberstaedter: Berl. klin. Wschr. **47**, 646 (1910); **48**, 956, 1558 (1911). — [6] Morgenroth, J., u. R. Levy: Ebenda **48**, 1560 (1911).

Nebenwirkungen nicht allgemein durchsetzen. In der Klinik verwandte man vielmehr später wieder das Chinin, von dem man, ebenso wie von einigen seiner Derivate, ebenfalls in vitro und in vivo eine bakterizide Wirkung gegenüber den Pneumokokken feststellen konnte. (Gundel und Seitz[7]; Kemkes[8]).

Auf der Erfahrung aufbauend, daß Chininverbindungen bei Pneumokokkeninfektionen wirksam sind, versuchte man eine noch nachhaltigere Wirkung dieses Pharmakons durch seine Kombination mit einem Antipyreticum zu erzielen. Ein solches Präparat liegt in dem bereits erwähnten „Solvochin" vor. (Es soll jedoch nicht unerwähnt bleiben, daß Wiele und Ibeling[9] auch bei der Frühbehandlung von Pneumonien mit Chinin-Calcium weder eine kupierende Wirkung dieses Pharmakons noch eine Abkürzung des Krankheitsverlaufes unter seinem Einfluß gesehen haben.)

Die Chemotherapie der Pneumokokkenerkrankungen hat nun vor kurzem durch die Einführung eines Derivats des Sulfanilamids, des Sulfapyridins, außerordentliche Fortschritte gemacht:



Sulfanilamid. Sulfapyridin.

Dieses Pyridinderivat des Sulfanilamids wurde 1938 von der englischen Firma May und Baker als „M. u. B. 693" in den Handel gebracht; mit ihm identisch sind die Präparate „Eubasin" (Nordmark-Werke, Hamburg) und Sulfapyridin „Homburg" (Chem. Pharmazeut. A.-G. Bad Homburg).

Wie Whitby[10] zeigen konnte, erwies sich das Sulfapyridin bei Mäusen als sehr wirksam gegen die verschiedenen Pneumokokkentypen. Dementsprechend fanden Evans und Gaisford[11], daß bei 100 Fällen von mit Sulfapyridin behandelter menschlicher Lobärpneumonie die Letalität nur 8% betrug gegenüber 27% bei einer Kontrollreihe von ebenfalls 100 Fällen. Gleichartige Befunde wurden u. a. von Dyke und Reid[12], Benda[13], Barnett, Hartmann, Perley und Ruhoff[14] sowie Flippin und Mitarbeiter[15] erhoben. Auch bei der postoperativen Pneumonie wurden nach Verabfolgung von Sulfapyridin sehr gute Erfolge gesehen[16].

---

[7] Gundel, M., u. L. Seitz: Klin. Wschr. **12**, 1083 (1933); Z. Immunit.forsch. **80**, 240 (1933). — [8] Kemkes, B.: Klin. Wschr. **16**, 1041 (1937). — [9] Wiele, G., u. H. Ibeling: Münch. med. Wschr. **1940**, S. 343. — [10] Whitby: Lancet **1938**, I. — [11] Evans u. Gaisford: Ebenda **1938**, II, S. 14. — [12] Dyke u. Reid: Ebenda **1938**, II. — [13] Benda: J. amer. med. Assoc. **111**, Nr. 26 (1938). — [14] Barnett, Hartmann, Perley u. Ruhoff: J. amer. med. Assoc. **112**, Nr. 6 (1939). — [15] Flippin u. Pepper: Amer. J. med. Sc. **196**, 509 (1938). — [16] Hinshaw u. Moersch: Arch. Surg. (Am.) **39**, 275 (1939).

Über die Wirksamkeit des Eubasins liegen entsprechend günstige Erfahrungen vor, und zwar sowohl bei der Behandlung von Pneumonien bei Kindern[17] als auch bei derjenigen von Erwachsenen[18, 19].

Von anderer Seite wurde nun versucht, die Wirkung des Chinins durch einen Zusatz der Muttersubstanz der Sulfonamidderivate, des Sulfanilamids, zu steigern. Ein solches Präparat liegt im „Chinfortan" (Chemisch-Pharmazeutische A.-G. Bad Homburg) vor, das 12,5% Chininhydrochlorid und 5% Sulfanilamid enthält.

Über günstige Wirkungen dieses Präparates bei mischinfizierten und reinen Pneumokokkenpneumonien berichteten Blanke[20], Leonhardt[21] und Wallbruch[22]. Kemkes[23] und Wüstenberg[24] prüften die Wirkung des Chinfortans in vitro, sie empfehlen auf Grund ihrer Versuchsergebnisse dieses Präparat zur therapeutischen Verwendung bei Streptokokken- und Pneumokokkeninfektionen. Demgegenüber beobachteten Wiele und Ibeling (l. c.) nach Verabfolgung des „Chinfortans" keine wesentliche Senkung der Mortalität bei Pneumonien (vgl. auch Hegler[25]).

In Anbetracht der therapeutischen Bedeutung der vorstehend genannten Verbindungen führten wir vergleichende Untersuchungen über ihre pharmakologische Wirksamkeit aus.

Experimenteller Teil.

Die pharmakologische Auswertung der einzelnen Verbindungen erstreckte sich auf ihre Toxizität und ihre Wirkung auf den Blutdruck, das Herz und die Gefäße.

1. Bestimmung der Toxizität.

Die Prüfung der Giftigkeit der Präparate wurde an weißen Mäusen im Gewicht von durchschnittlich 15—20 g vorgenommen. Die Präparate wurden z. T. vor der Injektion in geeigneter Weise mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt; sie wurden subcutan injiziert.

Es wurden folgende Verbindungen bzw. Präparate untersucht:

1. Chininhydrochlorid. 0,625%ige Lösung.

2. Solvochin (Chemisch-Pharmazeutische A.-G., Bad Homburg). 1 ccm = 0,250 g Chininhydrochlorid + Phenyldimethylpyrazolon. Die verwendete Lösung enthielt 0,625% Chininhydrochlorid.

3. Chinfortan (Chemisch-Pharmazeutische A.-G. Bad Homburg). 1 ccm = 0,125 g Chininhydrochlorid + Phenyldimethylpyrazolon + 0,05 g

[17] Stenger, K.: Dtsch. med. Wschr. **1939**, S. 634. — [18] Hegler, C.: Med. Welt **13**, 731 (1939). — [19] Tjiu, Djiu-tji: Z. klin. Med. **136**, 534 (1939). — [20] Blanke, K. F.: Med. Welt **1938**, S. 1493. — [21] Leonhardt, H.: Münch. med. Wschr. **1940**, S. 66. — [22] Wallbruch, E.: Ebenda **1940**, S. 828. — [23] Kemkes, B.: Med. Welt **1938**, S. 1484. — [24] Wüstenberg, J.: Münch. med. Wschr. **1940**, S. 825. — [25] Hegler, C. in G. Domagk u. C. Hegler: Chemotherapie bakter. Infektionen, S. 164. Leipzig, S. Hirzel, 1940.

p-Aminophenylsulfonamid. Die verwendete Lösung enthielt 0,625% Chininhydrochlorid.

4. Präparat 688/VI forte (Chemisch-Pharmazeutische A.-G. Bad Homburg). 1 ccm = 0,125 g Chininhydrochlorid + Phenyldimethylpyrazolon + 0,1 g p-Aminophenylsulfonamid. Die verwendeten Lösungen enthielten 0,31% oder 0,625% oder 1,25% Chininhydrochlorid.

5. Prontosil solubile (Bayer). 1 ccm — 0,025 g Prontosil solubile. Zu den Versuchen wurde die unverdünnte Lösung verwendet.

6. Eubasinum solubile (Nordmark-Werke, Hamburg). 1 ccm — 0,33 g Sulfapyridinnatrium. Die verwendete Lösung enthielt 3,3% Sulfapyridin-Na.

Die Ergebnisse der Toxizitätsprüfungen sind in Tabelle 1 wiedergegeben.

Als geringste letale Dosis (LD_{50} = Tod von 50% der Versuchstiere) fanden wir für das Chininhydrochlorid an insgesamt 47 Mäusen 0,350 g/kg Körpergewicht. Die Toxizität des Chininhydrochlorids wurde bereits früher von Hunt[26] an Mäusen bei subcutaner Applikation bestimmt. In einer Serie von 10 Tieren erwies sich eine Dosis von 0,400 g Chininhydrochlorid/kg Körpergewicht als tödlich; in einer anderen Serie von 5 Tieren wirkten bereits 0,36 g/kg Körpergewicht tödlich. Ein Vergleich dieser Zahlen mit den unserigen ist schlecht möglich, da Hunt für jede Dosis nur je 1 Tier benutzte und seine geringste letale Dosis daher nicht ohne weiteres mit der unserigen verglichen werden kann.

Dasselbe gilt für die von Bachem[27] ausgeführte Toxizitätsbestimmung des Chininhydrochlorids; dieser Autor injizierte 8 Mäusen Dosen von 0,096—0,735 g Chininhydrochlorid/kg Körpergewicht subcutan und stellte als geringste tödliche Dosis 0,422 g/kg Körpergewicht fest.

Wie sich aus Tabelle 1 ergibt, ist die Giftigkeit des Präparates „Solvochin" — bezogen auf Chininhydrochlorid — höher als die des reinen Chininhydrochlorids. Da dieses Präparat außer Chinin an pharmakologisch wirksamen Verbindungen nur noch (20%) Phenyldimethylpyrazolon enthält, muß seine erhöhte Toxizität hierauf zurückgeführt werden.

Praktisch dieselbe Giftigkeit wie „Solvochin" besitzt das Präparat „Chinfortan", das sich von dem ersten Präparat durch einen Zusatz von (5%) Sulfonamid unterscheidet. Es ergibt sich auch hieraus wieder die aus zahlreichen Literaturangaben[28,29,30] bereits bekannte weitgehende Ungiftigkeit des Sulfanilamids. Dieser Befund wurde auch durch die Bestimmung der Toxizität des Präparates „688/VI forte", das bei sonst gleichartiger Zusammensetzung den doppelten Gehalt an Sulfonamid wie „Chinfortan"

[26] Hunt, R.: Arch. internat. Pharmacodynam. **12**, 497 (1904). — [27] Bachem, C.: Ther. Mh. **24**, 532 (1910). — [28] Zusammenstellung bei H. Taeger: Sammlung von Vergiftungsfällen **9**, C 47 (1938). — [29] Molitor, H., u. H. Robinson: J. Pharmacol. (Am.) **65**, 405 (1939). — [30] Möller, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 708 (1939).

Tabelle 1.

Nr.	Verbindung	Injizierte mg Verbindung pro g Maus	Zahl der verwendeten Tiere	Davon gestorben	Geringste letale Dosis (Tod von 50 % der Tiere) g Verbindung/kg Körpergewicht
1	Chininhydrochlorid 0,625 % in Lösung		47		0,350 g Chininhydrochlorid
		0,270	1	0	
		0,280	4	2	
		0,285	2	0	
		0,290	3	1	
		0,300	3	0	
		0,310	2	0	
		0,320	3	1	
		0,330	2	0	
		0,340	5	2	
		0,350	4	3	
		0,360	5	4	
		0,370	4	3	
2	Solvochin 0,625 % Chininhydrochlorid in Lösung		57		0,290 g Chininhydrochlorid
		0,260	2	0	
		0,280	5	3	
		0,285	4	0	
		0,290	7	5	
		0,300	5	4	
		0,310	2	1	
		0,320	4	3	
3	Chinfortan 0,625 % Chininhydrochlorid in Lösung		53		0,285 g Chininhydrochlorid
		0,250	2	0	
		0,270	2	2	
		0,280	4	1	
		0,285	4	4	
		0,290	5	3	
		0,295	3	2	
		0,300	5	4	
		0,310	2	2	
		0,320	2	2	
4	688/VI forte		57		0,285 g Chininhydrochlorid
		0,270	1	0	
		0,280	5	1	
		0,285	4	2	
		0,290	6	3	
		0,295	3	2	
		0,300	3	3	
		0,310	2	2	
		0,320	1	1	
5	Prontosil 2,5 %ig		12		bis zu 3 g ohne Wirkung
6	Eubasin. solubile 3,3 % Sulfapyridin-Natrium in Lösung		52		1,80 g Sulfapyridin-Natrium
		1,40	1	0	
		1,50	2	1	
		1,60	2	1	
		1,70	2	0	
		1,80	6	3	
		1,90	8	3	
		2,00	7	6	
		2,10	6	2	
		2,20	2	2	
		2,30	2	2	
		2,40	2	2	
		2,50	1	1	

besitzt, bestätigt. Für dieses Präparat wurde ebenso wie für „Chinfortan" LD_{50} zu 0,285 g Chininhydrochlorid/kg Körpergewicht gefunden.

Der Befund, daß Dosen bis zu 3 g Prontosil solubile/kg Körpergewicht nicht tödlich wirkten, stimmt ebenfalls mit den in der Literatur vorhandenen Angaben über die Toxizität dieser Verbindung überein. (Literaturzusammenstellung bei Domagk und Hegler, l. c., S. 83.)

Von Marshall und Litchfield[31] wurde gefunden, daß für Sulfapyridinnatrium bei „normalen" Mäusen und peroraler Verabfolgung $LD_{50} = 2 \pm 0{,}49$ g/kg Körpergewicht ist. Wie sich aus unseren Versuchen ergibt, ist dieser Wert für Eubasinum solubile bei subcutaner Applikation annähernd ebenso groß.

2. Wirkung auf Blutdruck, Herz und Gefäße.

Die Messung des Blutdrucks wurde an Katzen in Urethannarkose (1,25 g Urethan/kg Körpergewicht) in der üblichen Weise auf blutigem

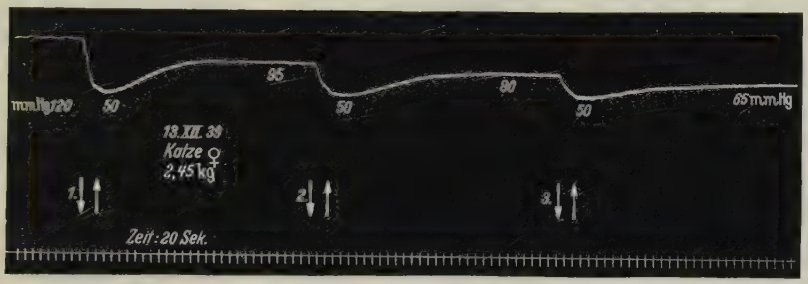


Abb. 1. Katze, ♀, 2,45 kg. 1. 20 mg Chininhydrochlorid; 2. 20 mg Chininhydrochlorid als „Chinfortan"; 3. 20 mg Chininhydrochlorid als „Solvochin"/kg Körpergewicht. Zeitschreibung: 20 Sekunden.

Wege ausgeführt. Die Prüfung der Herzwirkung wurde ebenfalls an Katzen in Urethannarkose vorgenommen. Wir verwandten dabei das bereits früher[32] geschilderte Verfahren.

Es ergab sich, daß bei intravenöser Injektion „Chinfortan" ebenso wie Chininhydrochlorid und „Solvochin" eine Senkung des Blutdrucks hervorruft (Abb. 1). Die Lösungen der drei genannten Substanzen wurden dabei mit physiologischer Kochsalzlösung so verdünnt, daß sie 1,25% Chininhydrochlorid enthielten.

Es wurde weiter gefunden, daß gleiche Mengen Chininhydrochlorid enthaltende Volumina der Präparate „Solvochin" und „Chinfortan" praktisch dieselbe Abnahme des Blutdruckes hervorrufen (Abb. 2).

Das Präparat „Chinfortan" verhält sich also in seiner Wirkung auf den Blutdruck wie ein Chininpräparat, ein Befund, der erwartet werden

[31] Marshall, E. K., u. I. T. Litchfield: J. Pharmacol. (Am.) **67**, 454 (1939). — [32] Vincke, E., u. H. E. Never: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 308 (1940).

durfte, da das Sulfanilamid auch in großen Dosen ohne Einfluß auf den Blutdruck ist (Molitor und Robinson, l. c.).

In weiteren Versuchen wurde dann die Wirkung der vorstehend genannten Verbin-

Abb. 2. Katze, ♂, 4,60 kg. Zeitschreibung: 20 Sekunden.

1. 5 mg Chininhydrochlorid/kg Körpergewicht als Solvochin (1 : 20).
2. 5 „ „ „ „ Chinfortan (1 : 20),
3. 10 „ „ „ „ Solvochin (1 : 20),
4. 10 „ „ „ „ Chinfortan (1 : 20),
5. 15 mg Chininhydrochlorid/kg Körpergewicht als Solvochin (1 : 20),
6. 15 „ „ „ „ Chinfortan (1 : 20),
7. 20 „ „ „ „ Solvochin (1 : 20),
8. 20 „ „ „ „ Chinfortan (1 : 20).

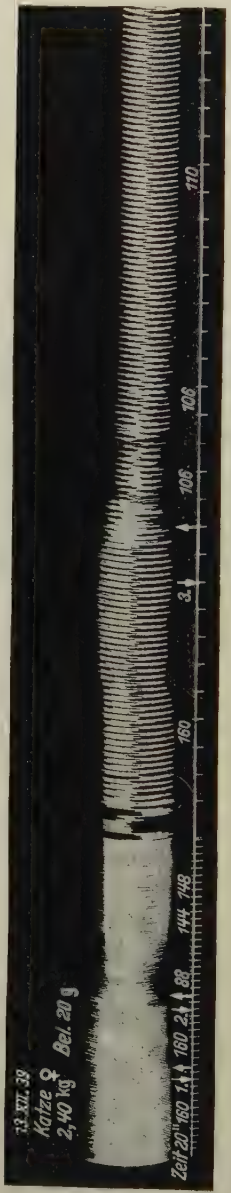


Abb. 3. Katze, ♀, 2,40 kg. Zeitschreibung: 20 Sekunden. Belastung 20 g.

1. 5 mg Chininhydrochlorid/kg Körpergewicht als Chinfortan.
2. 20 „ „ „ „ „ „
3. 20 mg Chininhydrochlorid/kg Körpergewicht als Solvochin,
4. 20 „ „ „ „ „ „.

dungen auf die Herztätigkeit miteinander verglichen, wobei häufig auch der Blutdruck registriert wurde. Bei der Prüfung der Herzwirkung des „Chinfortans" zeigte sich (Abb. 3), daß Dosen dieses Präparates, die 20 mg Chininhydrochlorid/kg Körpergewicht entsprachen, eine Pulsverlangsamung und Herzdilatation verursachten. Die Zahl der Pulsschläge sank z. B. von 160 auf 88 pro Minute. Dieselben Wirkungen zeigten entsprechende Mengen des Präparates „Solvochin" und reiner Chininhydrochloridlösungen. Alle Lösungen wurden vor der Injektion auf einen Gehalt von 1,25% Chininhydrochlorid verdünnt.

Beim Sulfanilamid und beim Prontosil solubile handelt es sich um pharmakologisch weitgehend indifferente Substanzen. So fanden Weese und Hecht[33], daß auch durch hohe Dosen Prontosil solubile weder die Herztätigkeit, noch der Blutdruck beeinflußt werden. Dementsprechend fanden auch wir, daß bei einer 4,5 kg schweren Katze nach Injektion von 20 mg Prontosil solubile/kg Körpergewicht (als 2,5%ige Lösung) der Blutdruck nur sehr unwesentlich (von 128 auf 135 mm Hg) anstieg und die Herztätigkeit unbeeinflußt blieb. In einem weiteren Versuch wurde die Wirkung des „Chinfortans" mit der des Prontosil solubile und des Eubasins verglichen (Abb. 4).

Aus Abb. 4 ergibt sich wiederum die stark toxische Wirkung von 20 mg Chininhydrochlorid/kg Körpergewicht (als Chinfortan 1 : 10 injiziert); die Injektion von 20 mg Prontosil solubile pro kg Körpergewicht (als 1,4%ige

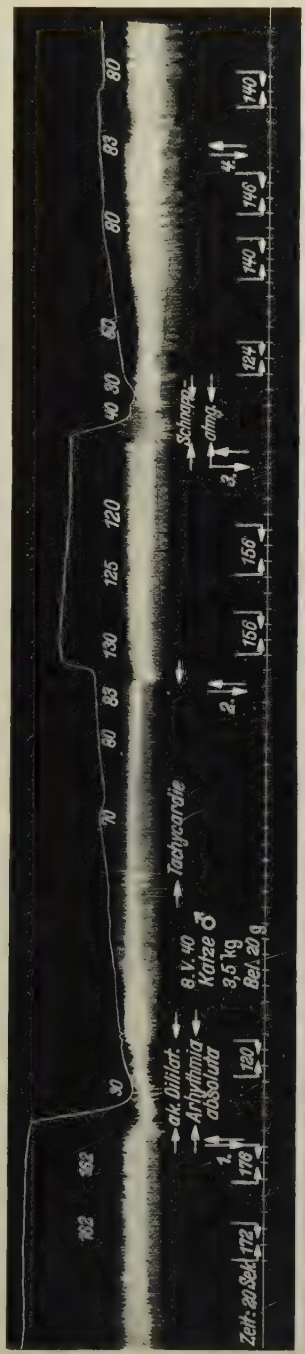


Abb. 4. Katze, ♂, 3,50 kg. Zeitschreibung: 20 Sekunden. Belastung: 20 g.
1. 20 mg Chininhydrochlorid/kg Körpergewicht als Chinfortan. 3. 20 „ Chininhydrochlorid/kg Körpergewicht als Chinfortan.
2. 20 „ Prontosil solubile „ „ „ 4. 20 „ Eubasin solubile „ „ „

[33] Weese u. Hecht: Zit. nach Domagk-Hegler: l. c., S. 84.

Lösung) bewirkte dann ein Ansteigen des geschädigten Blutdruckes bei allmählicher Besserung der Herztätigkeit. Beide Funktionen wurden durch nochmalige Injektion von 20 mg Chininhydrochlorid (als Chinfortan 1 : 10) wieder stark geschädigt. Die Injektion von 20 mg Eubasin. solubile pro kg Körpergewicht (als 1,4 %ige Lösung) schließlich war ohne merkbaren Einfluß auf Blutdruck und Herztätigkeit.

Zusammenfassung.

1. Es wurde an Mäusen die Toxizität verschiedener bei Pneumonien empfohlenen Chininpräparate und Sulfonamidderivate bei subcutaner Applikation bestimmt.

2. Die Wirkung dieser Substanzen auf Blutdruck und Herztätigkeit bei Katzen wurde miteinander verglichen. Dabei ergab sich, daß die Wirkung sulfanilamidhaltiger Chininpräparate auf Blutdruck und Herztätigkeit ebenso wie ihre Toxizität auf das in ihnen enthaltene Chinin zurückgeführt werden muß. Der Zusatz von Sulfanilamid erwies sich als pharmakologisch weitgehend indifferent.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kopenhagen.
(Prof. Dr. Knud O. Møller.)

Untersuchungen über das Verhalten des Albucid, Sulfapyridin, Azetylsulfapyridin und Sulfathiazol im Organismus.

Von

Margrethe Hejde Simesen.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. November 1940.)

In einer früheren Arbeit[1] wurde die Ausscheidung und Verbrennung des Sulfanilamid und Uliron im Rattenorganismus untersucht. In der vorliegenden Arbeit sind die gleichen Faktoren für Albucid, Sulfapyridin, Azetylsulfapyridin und Sulfathiazol untersucht.

Unter Verbrennung wird die Differenz zwischen der zugeführten Stoffmenge und der Summe der ausgeschiedenen und im Organismus verbleibenden Menge verstanden. Während Elimination den Unterschied zwischen der eingegebenen Menge und der im Organismus gefundenen Menge bezeichnet.

Versuchstechnik.

Zur Bestimmung der Verbrennung und Elimination einer eingegebenen Substanz muß der gesamte betreffende Organismus analysiert werden, eine Aufgabe, die nur bei kleinen Tieren durchführbar ist. Zu den vorliegenden Untersuchungen wurden Ratten benutzt.

Die gewünschte Menge der Sulfanilamidverbindung wird einer Ratte — in einer passenden Menge von jeweils HCl oder NaOH gelöst — intraperitoneal injiziert. Die Ratte befindet sich bis sie getötet wird in einem Drahtkäfig, der in einen großen Glastrichter gestellt wird. Käfig und Trichter werden mit kochendem Wasser gespült, worauf Urin, Spülwasser und Fäces analysiert werden. Die getötete Ratte wird gewogen, grob zerteilt und dann in der Fleischmaschine fein zermahlen. Wenn die Mischung homogen ist (10mal durch die Maschine gegeben), wird erneut gewogen; der Gewichtsverlust übersteigt selten 1%. In einem 100 ccm-Meßkolben wird eine bestimmte Menge von 5–20 g abgewogen und der Meßkolben dann bis zur Strichmarke mit 96% Alkohol aufgefüllt. Die Mischung wird gleichmäßig $^1/_2$ Stunde geschüttelt, und nachdem sie bis zum nächsten Tage gestanden hat, filtriert. Im Filtrat können die vorhandenen Sulfanilamidmengen direkt bestimmt werden. Bei der Berechnung wird die abgewogene Menge Rattensubstanz berücksichtigt. Wenn z. B. a g abgewogen wurden, wird das Volumen mit 100 — a ccm berechnet. Diese Art der Rechnung ist nicht völlig korrekt, aber Kontrollanalysen

[1] Simesen, M. H.: Arch. internat. Pharmacodynam. **64**, 250 (1940).

haben ihre Brauchbarkeit innerhalb der Fehlergrenze der kolorimetrischen Bestimmung (± 3%) gezeigt.

Die kolorimetrische Bestimmung wurde nach Angaben von Hecht[2] ausgeführt. Die Hydrolyse wurde jedoch auf folgende Weise vorgenommen: In einem nicht zu engen Reagensglas wird eine so große Menge des alkoholischen Filtrats abpipettiert, daß die Analyse so weit möglich 10–20 γ der Sulfanilamidverbindung enthält. Das Volumen des Filtrats wird durch Abdampfen auf dem Wasserbad bis auf etwa 1 ccm heruntergebracht, dann $^1/_2$ ccm Kjeldahl-Natron zugesetzt und das Reagensglas $^1/_2$ Stunde in das kochende Wasserbad gestellt. Nach der Abkühlung wird der Laugenüberschuß vorsichtig mit konzentrierter Salzsäure neutralisiert, wonach die Diazotierung usw. wie für die freie Verbindung vor sich geht. Vor der Kolorimetrierung muß aber immer filtriert werden.

In der folgenden Tabelle findet sich eine Zusammenstellung der Ergebnisse der vorliegenden Versuche. Die ausgeschiedene Menge wird in Prozent der eingegebenen Menge des Stoffes berechnet und mit U für die freie und mit U_k für die gekoppelte Verbindung bezeichnet. Entsprechend bedeutet R die in der Ratte gefundene Menge von freier Sulfanilamidverbindung, während R_k die gekoppelte Menge angibt. Beide Werte sind wieder in Prozent der zugeführten Menge angegeben.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, streuen die Resultate recht erheblich, selbst wenn man berücksichtigt, daß es sich um Tierversuche handelt.

Eine graphische Darstellung der Versuchsergebnisse ist in den folgenden Kurven gegeben. Hier sind auch die Resultate der früheren Arbeit über Sulfanilamid und Uliron mit angegeben. In den mit „Ausscheidung" bezeichneten Kurven wird als Ordinate die ausgeschiedene Menge in Prozent der zugeführten Stoffmenge und als Abszisse die Zeit in Stunden verwendet. Die mit „Elimination" bezeichneten Kurven bedeuten, wie schon erwähnt, die gesamte ausgeschiedene Stoffmenge, indem die Ordinate die Differenz zwischen der zugeführten und in der Ratte gefundenen Menge in Prozent der zugeführten Menge angibt und die Abszisse die Zeit in Stunden bezeichnet. In den mit „Verbrennung" bezeichneten Kurven gibt die Ordinate die Differenz zwischen der eingegebenen und der wiedergefundenen Menge (Summe der ausgeschiedenen und in der Ratte vorhandenen Stoffmenge) in Prozent der zugeführten Menge an. Die Abszisse bezeichnet wieder die Zeit in Stunden.

Die Kurven zeigen, daß 50—60% der eingegebenen Albucid- und Sulfathiazolmenge im Laufe von 10—20 Stunden ausgeschieden werden, wonach die Ausscheidung dieser Stoffe beendet ist. Von Sulfanilamid, Sulfapyridin und Azetylsulfapyridin werden insgesamt etwa 50% ausgeschieden. Während aber bei dem Sulfanilamid hierzu 24 Stunden benötigt werden, vergehen bei Sulfapyridin und Azetylsulfapyridin 2—3 Tage Endlich sieht man, daß im Laufe der 3—4 Tage, die die Ausscheidung dauert, etwa 20% der eingegebenen Ulironmenge ausgeschieden werden.

[2] Hecht, G.: Derm. Wschr. **106**, 261 (1938).

Alle untersuchten Stoffe werden — wie aus der Tabelle hervorgeht — teils in freier, teils in gebundener Form ausgeschieden. Zur Erhaltung

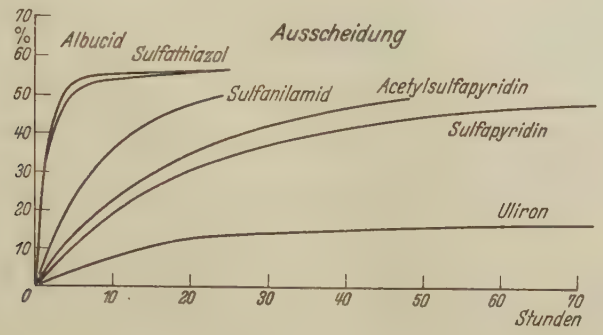


Abb. 1.

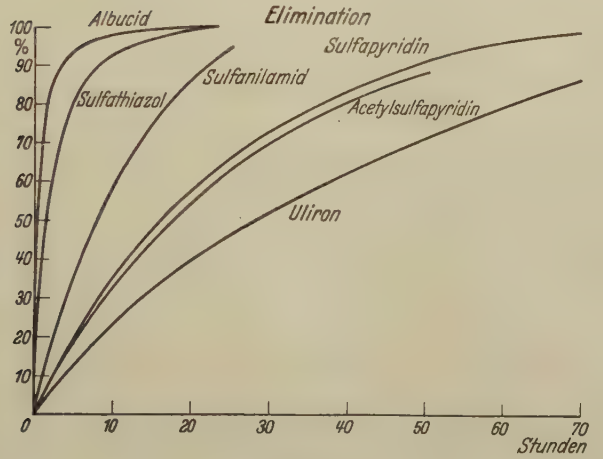


Abb. 2.

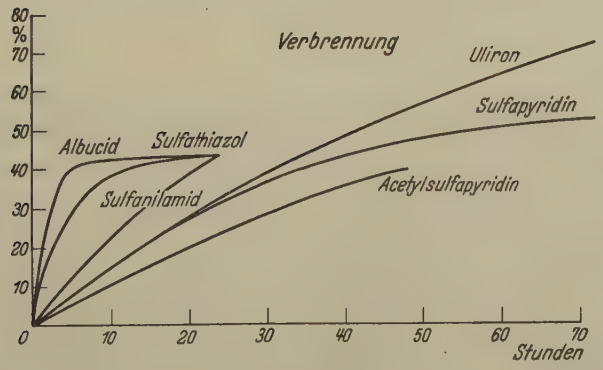


Abb. 3.

Tabelle 1.

Präparat	Gewicht der Ratte in g	Eingabe in cg	Zeit in Stunden	Ausgeschieden in % der Eingabe: Frei (U)	Gekop. (U_k)	Total ($U+U_k$)	Im Organismus gefunden in % der Eingabe: Frei (R)	Gekop. (R_k)	Total ($R+R_k$)	Elimination in % der Eingabe $100-(R+R_k)$	Verbrennung in % der Eingabe $100-(U+U_k+R+R_k)$
Albucid	185	4,3	1/4	0	0	0	52	14	66	34	34
	187	4,0	4	37	3	40	0	5	5	95	55
	202	4,0	8	26	6	32	0	4	4	96	64
	172	4,0	16	63	2	65	0	2	2	98	33
	225	4,0	24	51	6	57	0	1	1	99	42
Sulfapyridin	220	10,0	1/6	—	—	—	95	6	101	−1	−1
	175	10,0	4	—	—	—	69	6	75	25	25
	195	10,0	8	13	14	27	34	10	44	56	29
	190	10,0	16	3	5	8	32	37	69	31	23
	195	10,0	24	10	29	39	12	23	45	55	16
	205	9,5	48	12	6	18	2	5	7	93	75
	155	10,0	72	37	29	66	1	5	6	94	28
Acetylsulfapyridin	200	3,6	12	—	—	23	—	42	72	28	5
	290	3,6	12	—	—	31	—	60	60	40	9
	270	6,9	12	—	—	23	—	60	60	40	17
	255	7,1	12	—	—	22	—	63	63	37	15
	245	3,6	24	6	48	54	0	20	20	80	26
	200	7,8	24	4	31	35	0	54	54	46	11
	230	3,7	48	3	52	55	0	4	4	96	41
	225	7,5	48	2	36	38	0	11	11	89	51
Sulfathiazol	236	4,3	1/12	0	0	0	92	6	98	2	2
	315	2,8	1/6	0	0	0	81	1	82	18	18
	336	8,0	1/4	0	0	0	77	9	86	14	14
	316	8,0	4	55	8	63	—	—	11	89	26
	366	4,0	4	54	19	73	—	—	14	86	11
	350	8,0	6	35	11	46	18	6	24	76	41
	288	8,0	8	40	14	54	—	—	7	93	39
	269	4,0	8	60	17	77	—	—	3	97	20
	255	8,0	12	73	7	80	—	—	6	94	21
	232	8,0	12	40	0	40	—	—	6	94	54
	278	8,0	24	36	5	41	—	—	3	97	61

besserer Übersichtlichkeit ist indessen nur die gesamte Ausscheidung in den Kurven verzeichnet.

Die „Verbrennungskurven" zeigen weiterhin, daß der Rattenorganismus 40–50% der zugeführten Albucid- und Sulfathiazolmenge im Laufe von 10–20 Stunden verbrennt, wonach sich kein Albucid oder Sulfathiazol mehr im Organismus findet. Von Sulfanilamid werden im Verlaufe eines Tages etwa 50% verbrannt, während 40–50% des Sulfapyridins und Azetylsulfapyridins im Verlaufe von 2–3 Tagen verbrannt werden. Von einer eingegebenen Ulironmenge verbrennt der Rattenorganismus etwa 70% und braucht hierzu 3—4 Tage.

Von den untersuchten Sulfanilamidverbindungen wird Albucid am schnellsten, dann Sulfathiazol, Sulfanilamid und Azetylsulfapyridin verbrannt, während Uliron die längste Zeit braucht.

Ein direkt vergleichbares Maß für die Elimination hat man in der Zeit, die verbraucht wird, um etwa 50% der betreffenden Verbindung zu eliminieren. In folgender Übersicht sind die Zahlen und gleichzeitig die Art der Elimination dieser 50% angegeben.

Etwa 50% von	Elimination im Verlauf von Stunden	Hiervon ausgeschieden %	Verbrannt %
Albucid	1	30	20
Sulfathiazol	2	35	15
Sulfanilamid	8	32	18
Sulfapyridin	16	27	23
Acetylsulfapyridin	18	33	17
Uliron	28	14	36

Die Versuche erlauben natürlich keine Schlüsse auf das Verhalten dieser Stoffe in anderen Organismen; es ist aber nicht wahrscheinlich, daß von einem zum anderen Organismus größere Abweichungen im qualitativen Verhalten der Stoffe zueinander und auch in quantitativer Hinsicht vorhanden sind.

Zum Schluß sei erwähnt, daß nach Eingabe von Azetylsulfapyridin und Sulfathiazol in mehreren Fällen bei Ratten Hämaturie beobachtet wurde. In einem Falle wurde nach Zufuhr von Azetylsulfapyridin (Gewicht 200 g, Dosis 7,8 cg) und ein anderes Mal nach Eingabe von Sulfathiazol (Gewicht 316 g, Dosis 8 cg) die Niere des Tieres mikroskopisch untersucht*. In beiden Fällen war eine starke Hyperämie aller Gefäße vorhanden. In der Umgebung einiger Gefäße und Glomeruli wurden Extravasate

* Die Mikroskopie wurde von Dr. Erna Christensen vorgenommen.

beobachtet. Die Blutungen waren ziemlich frisch. Zeichen von Entzündung waren nicht vorhanden.

Zusammenfassung.

In Rattenversuchen wurde die Ausscheidung und Verbrennung (Elimination) von Albucid, Sulfathiazol, Sulfapyridin und Azetylsulfapyridin untersucht (in einer früheren Arbeit waren Sulfanilamid und Uliron untersucht worden).

Alle Stoffe werden im Organismus sowohl durch Ausscheidung als durch Verbrennung eliminiert. Die Stoffe werden in der angeführten Reihenfolge eliminiert: Albucid, Sulfathiazol, Sulfanilamid, Sulfapyridin, Azetylsulfapyridin, Uliron.

Aus der Abteilung für experimentelle Pathologie und Therapie
des William G. Kerckhoff-Instituts, Bad Nauheim.

Über die Mechanik des Wundstarrkrampfes[1].

Von

Herbert Göpfert und **Hans Schaefer.**

Mit 10 Textabbildungen (32 Einzelbildern).

(Eingegangen am 14. November 1940.)

Die Literatur über den Wundstarrkrampf ist so reichhaltig an Zahl, aber auch an Widersprüchen selbst in den grundlegendsten Ansichten über den Mechanismus der Erkrankung, daß es einerseits unmöglich ist, die Vielzahl der Probleme hier aufzurollen; andererseits ist es dringend notwendig, das Tatsachenmaterial auf seine Stichhaltigkeit zu prüfen und moderne Methoden zur Entscheidung der wichtigsten Probleme einzusetzen. Es sei vorweg bemerkt, daß alle Fragen, die mit der bakteriologischen Seite des Themas und der Immunitätslehre zusammenhängen, für unsere Fragestellung von vornherein ausscheiden. Uns interessiert ausschließlich die Frage, auf welchem Wege und mit welchen Mitteln das Toxin selbst an den erkrankten Elementen des Körpers angreift. Wir haben es also mit toxikologischen Untersuchungen zu tun. Daß der allgemeine Tetanus vorwiegend eine Angelegenheit des Zentralnervensystems ist, dürfte heute nicht bestritten werden. Sehr widersprechend hingegen sind die Angaben über den sogenannten lokalen Tetanus, der der unbedingte Begleiter eines jeden aszendierenden Tetanus ist. Was endlich die Ansichten über den Mechanismus im Element der erkrankten Organe, am Neuron, an der Muskelfaser anlangt, so herrscht ein vollständiges Durcheinander. Nicht anders ist es mit den Ansichten über den Weg der Infektion und den hauptsächlichen Sitz der Erkrankung des peripheren „lokalen" Tetanus. Die seit Jahren fast zum Dogma erstarrte Meinung von Meyer und Ransom (41), daß das Toxin bei peripherer Injektion längs der Nerven ins ZNS wandere und ausschließlich dort die Symptome des lokalen Tetanus hervorrufe, ist jüngst von Abel und seinen Mitarbeitern in zahlreichen Arbeiten angegriffen worden (1—5, 27). Die kritische Würdigung dieser Angriffe, eine Untersuchung von Harvey (32) und unsere eigenen Versuche lassen es in der Tat als gesichert erscheinen, daß der lokale Tetanus vorwiegend peripher lokalisiert ist, also eine Erkrankung des Muskels im weitesten Sinne darstellt. Stoffströmungen im Neuron selbst, doch auch in den Lymphbahnen[2] des Nerven, wie sie von älteren Autoren für das Toxin

[1] Ausgeführt mit Mitteln der William G. Kerckhoff-Stiftung und der Deutschen Forschungsgemeinschaft. — [2] Aschoff u. Robertson, Gumprecht, Stintzing.

angenommen wurden, sind schon aus anatomisch-physiologischen Gründen fraglich [vgl. Mies (42)] und in keinem Falle mehr als nachgewiesen anzusehen. Man wird daher gut daran tun, das, was für das Tetanus-Toxin unwahrscheinlich geworden ist, auch für andere Toxine und Viren als fraglich zu bezeichnen[3].

Doch selbst im Lager derer, welche an einen muskulären Ursprung des lokalen Tetanus glauben, sind die Meinungen über sein Zustandekommen geteilt. Schon Zupnik (57), dessen Arbeit heute noch größte Beachtung verdient, nennt beim lokalen Wundstarrkrampf neben dem muskulären einen tonisch-reflektorischen Anteil; daß sensible Impulse, die vom erkrankten Muskel ausgehen, äußerst wichtig sind, beweist das Verschwinden der lokalen Erscheinungen, wenn die sensible Muskelbahn unterbrochen ist (Liljestrand und Magnus). Doch gibt es zahlreiche Fälle, wo auch nach Durchtrennung aller sensiblen Bahnen die Starre erhalten bleibt (Fröhlich und Meyer). Hier spielt, wie wir nunmehr wissen, der Zeitfaktor eine ausschlaggebende Rolle: in frühen Stadien des lokalen Tetanus ist dieser durch Desafferenzierung aufzuheben, später nicht mehr. Endlich ist eindeutig nachgewiesen, daß Abtrennung auch aller motorischen Wege die Starre erhalten läßt [Meyer und Ransom; Abel, Hampil und Jonas (4), Zupnik], auch völlige Curarisierung hebt sie nicht auf (Bremer, Titeca und van der Meiren). Andererseits ist auch diese Tatsache zeitgebunden: in den Frühstadien schwindet die Starre nach Denervierung wohl (Abel, Hampil und Jonas; Fröhlich und Meyer; Zupnik) und auch der bereits in Entartungsreaktion fallende Muskel ist nicht mehr starr (Harvey).

Ähnlich widersprechend sind die Angaben über die bei der lokalen Starre ableitbaren Aktionsströme. Teils wurden keine Aktionsströme gefunden (Fröhlich und Meyer; Liljestrand und Magnus; Semerau und Weiler) teils solche, die nach Nervendurchschneidung verschwinden (Kuré und Shinosaki) oder bestehen bleiben (Harvey). Oder je nach dem Alter der Erkrankung findet sich Starre nur mit Aktionsströmen oder auch, im vorgerückten Stadium, ohne solche (Keller). In vielen Fällen sind gerade hier die Widersprüche durch methodische Unvollkommenheiten bedingt, da älteren Untersuchern wie Fröhlich und Meyer, Liljestrand und Magnus kleinste Aktionen sicher haben verborgen bleiben müssen.

[3] So soll angeblich das Lyssa-Virus im Nerven wandern: Di Vestea u. Zagari: Ann. Inst. Pasteur. **1887**, S. 237, 492; vgl. Högyes: „Lyssa" in Nothnagels Spezieller Pathologie u. Therapie, Wien 1900. V. 1. II., S. 74ff. — Gleiches wird vom Herpes-Virus behauptet: Marinescu u. Draganescu: Ann. Inst. Pasteur **37**, 753 (1923); Goodpasture u. Teague: J. med. Res. **44**, 139 (1923); Pette: Dtsch. Z. Nervenheilk. **121**, 113, 209 (1931). — Slauck (Dtsch. med. Wschr. **1938**, II, S. 1407; Klin. Wschr. **1937**, I, S. 740) gibt für das Rheuma-Virus nervöse Ausbreitung an. Sogar das Veratrin soll (hier wohl sicher irrtümlich) im Nerven wandern: v. Bezold u. Hirt: Unters. aus d. Würzburger Laborator. **2** (1867); Joteyko: Instit. Solvay travaux etc. **5**, 271 (1902).

Wir haben unsere Aufgabe zunächst darin gesehen, diese Widersprüche aufzuklären und glauben, daß uns das gelungen ist. Wir wollten ferner zu einem Einblick in den Mechanismus des Elementarvorgangs beim Tetanus gelangen und hofften hier einen Zugang durch eine Entdeckung Harveys gefunden zu haben. Harvey hat nämlich beobachtet, daß ein motorischer Impuls, der in eine erkrankte Endplatte des Warmblüters einläuft, dort eine langanhaltende Entladung auslöst. Wenn sich die motorische Endplatte nun als ein Modell zentraler Synapsen auffassen läßt, so wäre mit diesem Versuch nicht nur eine Erklärung vieler Tatsachen des lokalen Tetanus, sondern auch ein Zugang zur Deutung der zentralen Vorgänge des Allgemeintetanus gegeben. In diesem Punkte setzten zunächst unsere Versuche ein.

I. Technik.

Die Versuche wurden an 28 Meerschweinchen und 10 Katzen vorgenommen. Die Tiere wurden mit einer durch den Versuch ermittelten optimalen Dosis Toxin behandelt. Als Toxin benutzten wir ein hochkonzentriertes flüssiges Toxin, unter Toluolabschluß [1], das nach einem Rezept, das wir Prof. Prigge verdanken, mit einer 0,25%igen Lösung von Witte-Pepton in Jensenschem Phosphatpuffer verdünnt zur Injektion kam. Die Peptonlösung schützt das Toxin vor unkontrollierbaren Schädigungen durch Oxydation [Condrea uud Poenaru (11); Muttermilch usw. (43)]. 1 ccm des konzentrierten Toxins tötet nach Angabe der Herstellerin 2 Millionen g Mäuse bei subcutaner Injektion. Injiziert wird das Toxin in der Regel in den rechten M. gastrocnemius der Versuchstiere, in einer optimalen Dosis von etwa 0,1 ccm pro Meerschweinchen einer Verdünnung 1 : 10000. Bei Katzen wurde 0,1 ccm in der Verdünnung 1 : 100 injiziert. Die Injektion erfolgte in den später untersuchten Muskel, jedoch beim Meerschweinchen wegen der Kleinheit des Objekts nur von einem Stichkanal aus, wobei die Nadel während der Injektion, zur gleichmäßigeren Verteilung des Toxins, zurückgezogen wurde. An Katzen wurde neben dieser Injektionstechnik auch durch viele kleine Injektionen (10 Einstiche) das Toxin verteilt. Diese Menge gab niemals Allgemeintetanus, führte aber stets zu einer starken lokalen Starre des betroffenen Muskels. Kontrollversuche an dezerebrierten bzw. dekortizierten Katzen ohne Narkose ergab gegen narkotisierte Tiere keinen Unterschied. Wir haben daher die umständlichere und wegen der motorischen Unruhe der dezerebrierten Tiere auch weniger einwandfreie Methode der Dezerebrierung schließlich ganz verlassen und an Tieren gearbeitet, die durch 0,5 ccm/kg Tier der üblichen 10%igen Pernoctonlösung intramuskulär in die Vorderbeine in einen festen Schlaf versenkt waren. Bei Meerschweinchen ist die narkotische Breite der Dosierung übrigens klein, so daß auf genaue Dosierung geachtet werden muß. Die Tiere werden in einem Spezialgestell so fixiert, daß in Rückenlage beide Beine senkrecht nach oben stehen und fest eingespannt sind. Der Gastrocnemius wird dann unter sorgfältiger Schonung der Blutversorgung allseitig freigelegt, seine Achillessehne an einen Haltestab bzw. an einen elektrisch übertragenden isometrischen Spannungsschreiber gelegt. Es muß darauf geachtet werden, daß die vom Oberschenkel fast bis ans Fußgelenk herabziehenden Muskeln, die vom N. femoralis innerviert werden, dem Gastrocnemius möglichst wenig anliegen, da ihre elektrische Tätigkeit sich sonst recht stark auf die Elektroden, die

[1] Für Überlassung von Toxin sind wir den Behring-Werken (Marburg) und Herrn Prof. Prigge, Frankfurt a. M., zu größtem Dank verpflichtet.

dem Gastrocnemius anliegen, überträgt; es können dann Aktionsströme des Gastrocnemius vorgetäuscht werden, die in Wirklichkeit gar nicht vorhanden sind. Nach der Untersuchung des freigelegten Muskels wird der N. ischiadicus in der Tiefe einer Muskelspalte aufgesucht und möglichst weit beckenwärts angeschlungen und durchschnitten. Der Nerv wird dann über Elektroden gelegt und künstlich gereizt. Die Tiere befinden sich in einem großen Faraday-Käfig und werden durch Heizkissen und Heizstrahler warm gehalten.

Die Zeiten zwischen Injektion und Versuch schwankten zwischen 4 und 30 Tagen. Spätestens am 3. Tag nach der Injektion war der lokale Tetanus deutlich sichtbar. Ein Urteil über Vorhandensein und Grad der Starre ist in dem Winkel gegeben, in dem das Fußgelenk durch äußere Kraft gebeugt werden kann. Eine feinere Messung der Starre dürfte ohne komplizierte Methoden zur Zeit nicht

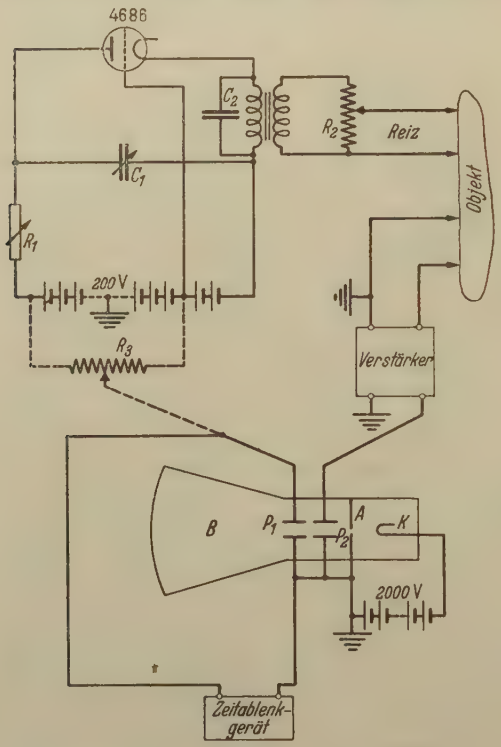


Abb. 1. Schaltbild der gesamten Versuchsanordnung, im Prinzip. Oben links das Reizgerät zur Nervenreizung. C_1: variabler Kondensator zur Regelung der Reizfrequenz (grob); R_1: Widerstand, zur fließenden Regelung der Reizfrequenz, vor allem bei Schreibung von „Kennlinien", wobei der Fleck der Braunschen Röhre B durch das Potentiometer R_3 mit der Hand abgelenkt wird. 4686: ein Philips-Rohr zur Erzeugung der Reizung. A und K: Anode (mit Lenard-Fenster) und Kathode der Braunschen Röhre. P_1 und P_2 die beiden Ablenkplattenpaare zur Abszissen- und Ordinatenschreibung. (Sie stehen, entgegen der Zeichnung, so, daß die Platten von P_1 senkrecht zu denen von P_2 angeordnet sind.) P_1 kann wahlweise von einem Zeitablenkgerät oder, bei Kennlinienschreibung, von R_3 her bedient werden. Die Regelwiderstände R_1 und R_3 sitzen auf einer gemeinsamen Achse.

möglich sein; die Tonusmessung von Schaltenbrandt (53), die methodisch allein hier in Frage käme, erschien uns für unsere Versuche zu kompliziert und zeitraubend, zumal die Beurteilung des Vorhandenseins der Starre eigentlich nie Schwierigkeiten macht, da die normale andere Seite zum Vergleich zur Verfügung steht.

Der Nerv (und in seltenen Fällen auch der Muskel direkt) wird mit einem kurzen Stoß hoher Spannung rhythmisch gereizt. Der Reizstoß, dessen Gesamtdauer 0,1 σ nicht erreicht, wird einem Reizgerät entnommen, das an anderem Orte beschrieben wird (49). Die Frequenz der Reize läßt sich zwischen 0,5 und 1000/Sek. stufenlos variieren. Die Zuführung des Reizes geschieht mit unpolarisierbaren Zink-Zinksulfat-Elektroden, da durch die Polarisation von blanken Drahtelektroden, z. B. aus Platin, kurze Schließungstetani im Nerven entstanden, wenn die Reiz-

stärke etwas übermaximal war. Bei unpolarisierbaren Reizelektroden hingegen treten im Nerven immer nur einzelne Aktionen auf jeden Reiz hin auf. Diese Verhältnisse erhalten später besondere Bedeutung. Die Ableitung des Aktionsstromes geschieht jedoch, wegen des geringeren „Reizeinbruchs", mit Platinelektroden. Bei den relativ schnellen Vorgängen und dem hohen Eingangswiderstand des Verstärkers ist eine Verzerrung durch Polarisation nicht zu befürchten.

Beobachtet wird zunächst der Aktionsstrom des Muskels und des in den Muskel eintretenden Nerven. Zur Darstellung des Aktionsstromes dient ein kapazitätsgekoppelter, vollnetzbetriebener Wechselstromverstärker mit 400000facher Verstärkung (49) mit angekoppeltem Kathodenstrahloszillographen. Als Oszillograph wurde der tragbare Philips-Oszillograph GM 3152 benutzt, der vollnetzbetrieben ist und ein Zeitablenkgerät enthält. Die zur Beobachtung kommenden Vorgänge werden vom Schirm der Braunschen Röhre als stehende Bilder mit der Leica photographiert. Für besondere Fälle wurde bei stehendem Brennfleck der Braunschen Röhre und bewegtem Film ein langdauernder Vorgang kontinuierlich aufgenommen. Um zwei Vorgänge gleichzeitig zu beobachten, konnten beide Verstärker synchron mit dem Philips-Elektronenschalter GM 4196 an den Oszillographen gelegt werden. Es werden dann mit einem Oszillographen zwei Vorgänge derart aufgezeichnet, daß der Brennfleck der Braunschen Röhre im Rhythmus von 10000/Sek. zwischen den beiden Kurvenbildern hin und her tanzt und jeweils $^1/_{10000}$ Sek. lang abwechselnd die eine und die andere Kurve schreibt. Die Ablesung ist also hierbei nur auf 0,1 σ genau möglich. Wir haben vor allem Mechanogramm und Aktionsstrom gleichzeitig auf diese Weise beobachtet.

Abb. 1 gibt einen Überblick über die ganze Schaltung. Um auch das Mechanogramm des Muskels beobachten zu können, bedienten wir uns zweier Mikrophone, die im wesentlichen den von Schaefer und Göpfert (50) beschriebenen Anordnungen entsprechen. Die Mechanogramme wurden auch mit dem Oszillographen registriert.

II. Beobachtungen des mechanischen Verhaltens am lokal tetanusstarren Muskel.

Wir werden im folgenden die von uns angestellten Versuche in möglichst übersichtlicher Weise nach ihren Ergebnissen gruppieren, wobei natürlich das gleiche Versuchstier zu mehreren Versuchsgruppen Beiträge geliefert haben kann. Der Ausgangspunkt jeder Beobachtung über den lokalen Tetanus wird das mechanische Verhalten des Muskels sein.

1. Beobachtung. Der lokal tetanisierte Muskel zeigt nach spätestens 3 Tagen eine ausgesprochene Starre, die zunächst daran erkennbar ist, daß das betroffene Glied in einer veränderten Haltung erscheint; Injektion in den Gastrocnemius z. B. bedingt eine starke Streckstellung der Hinterpfote. In den ersten Tagen ist dabei das Glied passiv noch gut bewegbar, der erkrankte Muskel widersetzt sich also einer passiven Dehnung nicht oder nur mit kleiner Kraft. Nach etwa einer Woche ändert sich dies Verhalten: der Muskel setzt jetzt der passiven Dehnung (durch Bewegung in dem von ihm bedienten Gelenk) einen starken, mit der Zeit stetig zunehmenden Widerstand entgegen. Die Durchschneidung des Nerven beseitigt in den ersten Tagen die periphere Starre vollkommen, während später zu der Zeit, wo der Muskel passiv nicht oder schlecht dehnbar ist,

diese Starre nach Nervendurchschneidung unverändert bestehen bleibt oder nur wenig abnimmt. Es geht daraus hervor, daß die Starre zwei Stadien durchmacht, von denen das Frühstadium nicht ohne Beteiligung des ZNS zustande kommt, während das Spätstadium vorwiegend oder ganz peripher lokalisiert ist.

2. Beobachtung. Wir haben von einigen Tieren die Gewichte des gesunden und tetanischen Gastrocnemius verglichen. Es zeigt sich in jedem Falle, auch in den frühesten Stadien schon, eine deutliche und später erhebliche Atrophie (Abb. 2). Die Muskeln sehen schließlich wie leere

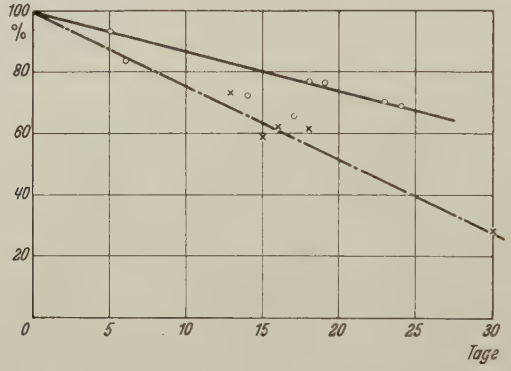


Abb. 2. Atrophie der mit Tetanus-Toxin vergifteten Muskeln in den ersten Wochen nach der Injektion. o bei Meerschweinchen, × bei Katzen. Abszisse: Alter des Tetanus, seit der Injektion. Ordinate: Gewicht des tetanischen Muskels in Prozent des gesunden. 5 Meerschweinchenwerte liegen auf einer Geraden, 3 weichen nach unten ab. Die Katzenwerte (strichpunktierte Kurve) streuen etwas mehr.

faltige Säcke aus, weil offenbar das funktionstüchtige Gewebe bei erhaltenem Stützgewebe geschwunden ist*.

3. Beobachtung. Der tetanische Muskel in situ und nach Nervendurchschneidung ist völlig in Ruhe, obgleich er in den späten Stadien starr und verkürzt ist. Legt man nämlich den Muskel an einen höchstempfindlichen mechanischen Spannungsschreiber, und zwar das von Schaefer und Göpfert (50) hierzu verwendete Telephon, so wird keinerlei Spannungsschwankung registriert, obgleich die Methode bei höchster Empfindlichkeit des Oszillographen noch die mechanische Tätigkeit einzelner Muskelfasern angibt, wie wir bei Gelegenheit einer rhythmischen, doch völlig gehemmten indirekten Muskelreizung nachweisen konnten. Es ist also die Starre der späten Stadien eine echte Kontraktur ohne die bei einem physiologischen Tetanus immer wahrnehmbaren Oszillationen [„Muskelton" (51)].

4. Beobachtung. Wir haben bei einigen Tieren den N. ischiadicus in steriler Operation durchschnitten und die Wunde geschlossen. Die Tiere

* Anmerkung bei der Korrektur. Ein 6 Monate alter Tetanus, der klinisch abgeheilt war, zeigte normales Muskelgewicht (links gleich rechts).

lebten beliebig lange Zeit weiter. Es zeigte sich, daß schon am 2. Tage der Operation die Starre des denervierten tetanischen Muskels deutlich zurückging, und am 3. Tage war der Muskel völlig schlaff. Diese Erschlaffung trat trotz fortgeschrittener Atrophie ein. Die Starre ist also an die Funktionstüchtigkeit der motorischen Endplatte gebunden und verschwindet, wenn die Degeneration derselben fortschreitet. Sie ist dabei schon zu einer Zeit erloschen, wo der Muskel vom Nerven aus noch gut erregbar war. Gleichzeitig sind die elektrischen Vorgänge an der Endplatte stark verkleinert (vgl. Abb. 7g).

5. Beobachtung. Der tetanische Muskel, nach 14tägiger Inkubation noch relativ wenig atrophisch (0,8 g gegen 1,1 g), zeigte stark verminderte Verkürzung bei vollkommenem Tetanus und isotonischer Kontraktion. Die Hubhöhe betrug bei etwa 1 g Gewicht 1,5 mm gegen 5 mm normal.

III. Beobachtung des spontanen elektrischen Verhaltens am lokal tetanusstarren Muskel.

Die feinsten Aufklärungen über den Funktionszustand des Muskels werden wir durch Anwendung elektrischer Methoden erhoffen dürfen. Sind wir doch in der Lage, die Tätigkeit einzelner Muskelfasern auch dann noch zu erkennen, wenn die Fasern sich in der Tiefe des Muskels, weit entfernt von den Arbeitselektroden und stark kurzgeschlossen von dem darüberliegenden inaktiven Gewebe befinden. Bei der relativ hohen Spannung, welche der Aktionsstrom der Muskelfaser entwickelt, kommt man mit 400000facher Verstärkung hier zum Ziel (100 μV = 15 mm). Als Methoden von ausreichender Feinheit sind jedoch ausschließlich Oszillographen mit leistungsfähigen Verstärkern anzusehen, wenn auch das Saitengalvanometer, richtig gehandhabt, durchaus brauchbare Resultate bringen kann, wie die sehr sorgfältige Arbeit von Keller beweist. Wir wollen uns zunächst einmal mit den schwächsten elektrischen Erscheinungen, den spontanen Aktionsströmen, beschäftigen.

6. Beobachtung. Wir legten dem Muskel bei erhaltenem Nerven unmittelbar die Ableiteelektroden auf. In solchen Fällen zeigt sich je nach der Narkosetiefe eine mehr oder weniger starke Tätigkeit spontaner Aktionsströme auf der gesunden und der kranken Seite. Die Aktionen auf der kranken Seite sind dabei immer merklich, oft erheblich stärker als auf der gesunden und können auch dann noch stark ausgeprägt sein, wenn auf der gesunden Seite durch Vertiefung der Narkose völlige Ruhe eingetreten ist (Abb. 3). Doch lassen sich durch hinreichend große Narkosetiefen auch auf der kranken Seite alle Zeichen der spontanen Tätigkeit zum Erlöschen bringen. Sind die Muskeln länger als etwa 5 Tage gespritzt, so schwindet dabei die Starre nicht. Es gibt also eine Starre ohne Auftreten von Aktionsströmen, doch nur bei älteren Vergiftungen.

7. Beobachtung. Wird dieselbe Beobachtung bei durchschnittenem Nerven wiederholt, so zeigt sich häufig weder am gesunden noch am kranken Muskel ein Aktionsstrom, obgleich, wie schon in Beobachtung 3 gesagt wurde, die Starre nach Nervendurchschneidung erhalten bleibt, falls die Vergiftung alt genug ist. Auch hier erweist sich also die Starre als eine Kontraktur, nicht als ein tonusartiger Zustand mit Aktionsstrom[5]. In sehr vielen Fällen aber zeigt der erkrankte Muskel eine lebhafte spontane elektrische Fibrillation. Zwar entstehen solche Fibrillationen

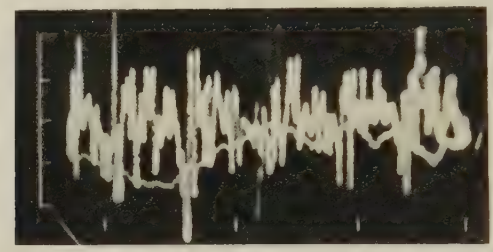
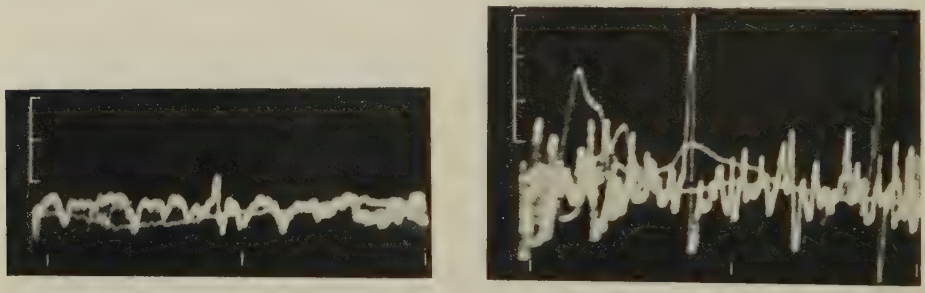


Abb. 3. „Spontane" Aktionsströme von einem tetanischen Muskel (Gastrocnemius) in situ abgeleitet und bei erhaltenem Nerven. Analoge Ableitung vom Gastrocnemius der anderen Seite ergab minimale Ströme bzw. vollkommene Ruhe. Katze. 16 Tage alter Tetanus. Zeiteichung 0,1 Sek.; Ordinatenteilung in 0.2 mV.



a b

Abb. 4. „Spontane" Aktionsströme eines tetanischen Muskels nach Nervendurchschneidung. Meerschweinchen-Gastrocnemius, 15 Tage alter Tetanus.
a) In absoluter Ruhe des Präparates; b) kurz nachdem der Nerv etwas bewegt wurde. Zeiteichung 0,1 Sek.; Ordinatenteilung in 0,1 mV.

auch auf der gesunden Seite bei Austrocknung, Abkühlung, Zerrungen am Nerven u. dgl., doch immer entweder bei stärkeren Insulten, in schwächerem Ausmaß oder mindestens in geringerer Frequenz. Beim tetanischen Muskel genügt schon das Anheben und Auflegen des Nerven auf die Elektroden, um eine oft mehrere Sekunden bis zu einer Minute lang

[5] Daß beim quergestreiften Muskel tonusartige Verkürzungen immer mit Aktionsströmen einhergehen, wird zwar von allen Anhängern eines „Sperrmechanismus" abgelehnt. Doch scheint mir der einwandfreie Beweis für das Vorhandensein eines echten, funktionellen Sperrmechanismus ohne Aktionsstrom nicht erbracht.

anhaltende Salve von Fibrillationen auszulösen. Man wird diese Erregungen demnach nicht eigentlich spontan nennen können, da sorgfältigste Schonung und anhaltende Ruhe das Präparat wieder stromlos machen. Doch ist der tetanische Muskel gegen die kleinsten Reize sehr empfindlich, die Schwelle zur Auslösung von Erregungen offenbar sehr stark herabgesetzt (Abb. 4)*. Die Erregungen entstehen aller Wahrscheinlichkeit nach nicht im Nerven, da wir mit unseren Methoden Impulse, die in den Muskel hineinlaufen, niemals gesehen haben. Doch liegt der Effekt am Nerven, wegen der Kleinheit der Potentiale einzelner Faserströme, an der Grenze der Beobachtbarkeit. Die Größe solcher Impulse pflegt etwa 10—20 μV zu sein und war auf unserer Apparatur nur 1,5 –3 mm hoch. Wahrscheinlich gehen also diese spontanen Erregungen von einer Stelle jenseits des Nerven aus. Wir denken aus anderen, noch zu erörternden Gründen in erster Linie an die motorische Endplatte als Ursprungsort.

Allerdings zeigte der in Beobachtung 4 geschilderte Versuch auch nach verschwundener Starre noch die hier erwähnte Übererregbarkeit. Jedoch war die Endplatte noch nicht völlig degeneriert, sondern nur weniger funktionstüchtig geworden.

8. Beobachtung. Am peripheren Stumpf des Muskelnerven sind auch dann, wenn alle nicht aus dem kranken Muskel kommenden Äste, vor allem alle Hautäste abgeschnitten werden, dauernde zentripetal laufende Impulse ableitbar. Der Richtungssinn der Impulse ist aus ihrer Polung zu erkennen, da die zum Muskel hin liegende Ableiteelektrode negativ wird, wenn monophasisch gegen den Querschnitt des Nervenstumpfes abgeleitet wird. Diese Impulse sind auf der kranken Seite immer wesentlich frequenter und auch größer als auf der gesunden. Ihre Kleinheit ließ jedoch eine photographische Registrierung nicht zu[6]. Diese Impulse können demnach nur sensible Erregungen aus den Muskelempfängern sein.

IV. Beobachtung des Aktionsstromes bei künstlicher Reizung.

Die am künstlich erregten Aktionsstrom beobachtbaren Meßgrößen betreffen zunächst die absolute Größe und die Zeitdauer des Aktionsstroms nach Einzelreiz. Für die Leistungsfähigkeit des Muskels ist aber darüber hinaus das rhythmische Verhalten des Muskels von besonders großer Bedeutung. Jede natürliche Bewegung wird bekanntlich von einer Serie sich rasch folgender Aktionsströme innerviert; dem Physiologen ist diese Art der Dauerkontraktion durch rhythmische, diskontinuierliche Impulse als vollkommener „Tetanus“ bekannt. Wir wollen in der vorliegenden

* Anmerkung bei der Korrektur: Inzwischen haben wir ein Tier mit einem 6 Monate alten lokalen Tetanus beobachtet, bei dem immer noch eine ganz erhebliche Überempfindlichkeit bestand! Hier gewinnen wir wohl einen Einblick in den Mechanismus des sogenannten „Spättetanus“.

[6] Der Verstärker mit 900000facher Verstärkung stand uns zur Zeit dieser Versuche noch nicht zur Verfügung.

Arbeit den doppelsinnigen Ausdruck „Tetanus" jedoch nur für das krankhafte Phänomen verwenden und sprechen daher von dem physiologischen Vorgang schlechtweg als von der rhythmischen Erregung. Diese zeigt zwei quantitativ faßbare Vorgänge: wird zunächst bei der Nervenreizung die Reizfrequenz gleitend erhöht, so folgt der Nerv des Kaltblüters bis zu einer Frequenz von etwa 100—120 sec [Holzer (32a); Göpfert und Schaefer (29)], der Muskel bei direkter Reizung bis zu etwas niedrigeren Frequenzen, doch bei indirekter Reizung zeigt sich ein schon bei kleinen Frequenzen einsetzender Abfall der Aktionsamplitude (29). Das bedeutet also, daß die motorische Endplatte bei hohen Impulsfrequenzen des Nerven diese Frequenzen nicht mehr ungehindert durchtreten läßt, sondern sie abbremst, indem sie entweder Alternantes formt oder die Amplituden der Muskelaktionsströme durch partielle Blockade verkleinert. Wir haben daher der Endplatte eine Schutzfunktion zugeschrieben: sie wirkt wie ein Frequenzsieb, um den Muskel vor Überlastung durch zu frequente Reize zu schützen. Wir haben diese Versuche auch auf den Warmblüter ausgedehnt und suchen nun insbesondere am tetanuskranken Muskel zu bestimmen, ob sich die höchste Frequenz, der ein solcher Muskel bei Reizung vom Nerven aus noch ohne Amplitudenverlust folgt, durch die Vergiftung ändert.

Technisch wird die Untersuchung so durchgeführt, daß die Amplitude des Aktionsstromes als senkrechter Strich auf dem Schirm der Braunschen Röhre aufgezeichnet wird, während die Abszissenwerte unmittelbar die Reizfrequenz bedeuten. Und zwar wird der Brennfleck der Braunschen Röhre von Hand in der Abszissenrichtung abgelenkt und gleichzeitig damit, fest an diese Ablenkung angekoppelt, die Reizfrequenz geändert. Das entstehende Diagramm gibt also die Beziehung zwischen Amplitude des Aktionsstroms (Ordinate) zur Reizfrequenz als Abszisse an. Man nennt solche Diagramme in der Technik „Kennlinien". Die technische Durchführung dieser Versuche geschieht nach Holzer (32b) mit einem an anderem Orte beschriebenen Gerät (49).

Neben dieser Siebung der hohen Frequenzen zeigt die Endplatte jedoch eine charakteristische Änderung ihrer Erregungsleitung bei anhaltender rhythmischer Reizung: nach Einschaltung einer Reizung von z. B. 100—200/Sek. sinkt die Amplitude des Muskel-Aktionsstroms mit der Zeit stetig ab. Dieser Vorgang ist die sogenannte „Wedensky-Hemmung" (56). Auch sie ist quantitativ faßbar und ein gutes Maß für die rhythmischen Eigenschaften des Muskels.

Endlich zerfällt der Aktionsstrom des Kaltblütermuskels bei anhaltender rhythmischer Reizung in zwei Anteile, einen rasch erlöschenden, der offenbar der fortgeleiteten Erregungswelle entspricht, und einen relativ stabilen, den wir auf die elektrische Tätigkeit unter der motorischen Endplatte bezogen haben (52). Auch der Warmblütermuskel zeigt diese beiden Anteile, wie wir jetzt fanden, und die elektrischen Vorgänge an der Endplatte, von uns kurz, wenn auch ungenau, Endplattenstrom genannt, versprechen einen Einblick in die quantitativen Änderungen der Erregungsvorgänge an der Nerv-Muskel-Synapse. Da diese Synapse wiederum ein Modell auch der zentralen Synapsen ist, so kann durch

Beobachtung des Endplattenstroms vielleicht ein Einblick auch in die Mechanik des zentralnervösen Tetanus gewonnen werden.

9. Beobachtung. Der Aktionsstrom auf indirekten Einzelreiz ist am kranken Muskel meist in der Amplitude verkleinert, in der Form jedoch ohne charakteristische Besonderheiten. Man muß beachten, daß es beim Gastrocnemius sehr schwierig ist, wegen des gefiederten Baues und der nicht immer gleichförmigen nervösen Versorgung glatte diphasische und gleichartige Kurven von links und rechts zu erhalten. Kleine Unterschiede der Form bedeuten daher nichts (Abb. 5). Um Unterschiede zwischen gesundem und krankem Muskelaktionsstrom möglichst auszuschalten, wurde immer von symmetrischen Stellen beider Muskeln

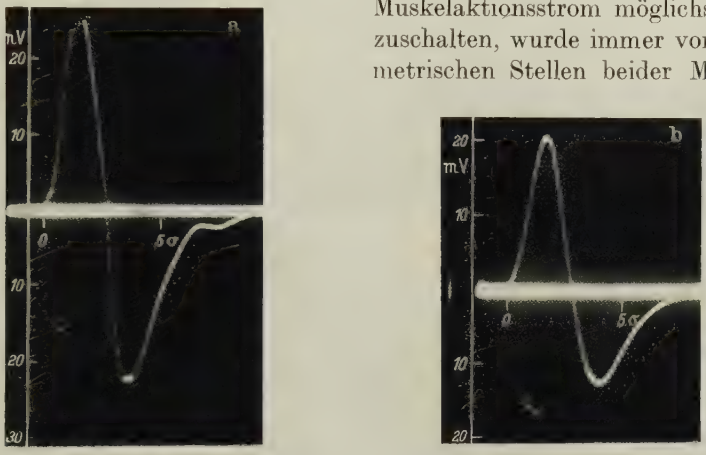


Abb. 5. Diphasische Aktionsströme nach einem indirekten maximalen elektrischen Einzelreiz, Meerschweinchen.
a) Abgeleitet vom gesunden Gastrocnemius; b) abgeleitet vom tetanischen Muskel unter äußerlich gleichen Bedingungen, 7 Tage alter Tetanus. Zeiteichung in 5 σ; Ordinatenteilung in 10 mV.

abgeleitet. Direkte Muskelreizung liefert beim Gastrocnemius überhaupt keinen Aktionsstrom, da der Muskel keine hinreichend langen durchlaufenden Fasern besitzt (47). Die kleinere Spannung des Aktionsstroms am kranken Muskel kann durch die Atrophie (Beobachtung 2) hinreichend erklärt werden.

10. Beobachtung. Wir haben bei allen unseren Versuchstieren unsere Aufmerksamkeit in erster Linie auf das Vorhandensein jener langanhaltenden Erregungsentladungen gerichtet, welche Harvey nach indirektem Einzelreiz in der motorischen Endplatte entstehen sah. Derartige Entladungen wären nicht nur ein unmittelbar anschauliches Ergebnis, das die Eigentümlichkeiten des zentralen (und zum Teil des peripheren) Tetanus erklärt. Wir kennen in der Veratrinkontraktur seit der Untersuchung Eichlers ein sicher gleichartiges elektrisches Phänomen. Die neuromuskuläre Kontraktur Bremers (7), eine Kontraktur nach Doppelreizung des motorischen Nerven in bestimmtem Abstand, gehört sicher auch

zu diesen Erscheinungen, denn wenn auch Bremer selbst das Phänomen zu den echten Kontrakturen rechnet, so ist doch die Aktionsstromlosigkeit nicht erwiesen, ja geradezu unwahrscheinlich[7]. Nach den Untersuchungen von Eichler und Hattingberg (20) gehört endlich die Bewegungsstörung bei der Thomsonschen Krankheit hierher: auch hier handelt es sich um eine in der motorischen Endplatte entstehende Erregungssalve, die nach einem einzelnen Nervenimpuls ausgelöst wird. Tritt nun der Wundstarrkrampf als gleichartige Erscheinung hinzu?

Die äußerlich beurteilbare Bewegungsstörung beim Tetanus, vor allem beim lokalen Tetanus, hat ja nun mit der Veratrinvergiftung, erst recht aber mit der Thomsonschen Krankheit, nur wenig Ähnlichkeit. Wir fanden in der Tat bei fast allen unseren Tieren keine Spur der von Harvey beschriebenen Entladungsserien, die wir der Einfachheit halber „Nachentladungen" nennen wollen. Das Fehlen der Nachentladungen wurde konstatiert, obwohl der lokale Tetanus in allen bekannten Symptomen aufgetreten war. Die von Harvey beschriebenen Nachentladungen können also nicht zur Erklärung der tetanischen Erscheinungen herangezogen werden.

Es bleibt eine offene Frage, wie denn der abweichende Befund Harveys zu erklären sei. Wir haben gegen die Harveysche Methodik viererlei geändert: wir haben beim Meerschweinchen fast nie dezerebriert, sondern narkotisiert. (Die Tiere gehen an der Dezerebrierung wegen des für ihre Größe meist enormen Blutverlustes zugrunde.) Wir haben bei Katzen meist ebenfalls narkotisiert, allerdings zeigen dezerebrierte Kontrollen keine Abweichung vom Befund an narkotisierten Tieren. Wir haben bei Katzen meist den Gastrocnemius gespritzt und nur einmal den Tibialis anticus, den Harvey benutzt. Wir haben drittens die Aktionsströme nicht mit Nadelelektroden abgeleitet, die in den Muskel eingestochen werden, sondern mit Drahtelektroden von der Muskeloberfläche. Wir haben hierdurch mit Sicherheit Reize durch den Einstich vermieden, was nach dem oben Gesagten gerade bei dem sehr reizbaren tetanischen Muskel unbedingt notwendig scheint. Ein Kontrollversuch am Gastrocnemius mit konzentrischen Nadelelektroden zeigte denn auch durch den Einstich hervorgerufene starke Spontanentladungen, die sich allerdings beruhigen. Die Nachentladungen Harveys beobachteten wir hier auch nicht. Wir haben endlich die Injektion des Toxins nicht durch multiple Injektionsstellen, sondern von einem Stichkanal aus vorgenommen. Das am Tibialis gespritzte Tier war jedoch in der Harveyschen Weise behandelt. Eben dies Tier zeigte nun auch angedeutet den Befund Harveys, doch nur bei den ersten Reizungen. Die Nachentladungen verschwanden irreversibel, als wir sie photographisch festhalten wollten; sie sind offenbar sehr rasch erschöpfbar. Die Starre jedoch blieb, auch zeigte das Tier noch

[7] Vgl. Schaefer: (46), S. 378.

lebhafte reflektorische Bewegungen trotz der Narkose: es waren also tiefe Zentren noch funktionstüchtig. Durch einen Zufall gelang uns dann, fast am Ende unserer Versuchsserien, eine überraschende Aufklärung.

11. Beobachtung. Der Nerv eines normalen Meerschweinchens wird mit großem Zeitintervall mit eben maximalen Einzelreizen gereizt, doch so, daß die Anode am Nerven muskelnah liegt. (Aus den üblichen Gründen lag in allen früheren Versuchen die Kathode muskelnah.) Unter diesen Umständen trat eine langdauernde Nachentladung auf, die sowohl der von Harvey beim Tetanus beschriebenen als auch der Veratrinkontraktur nach Eichler absolut gleicht. Die Entladung überdauert die erste Muskelzuckung und das Nachpotential des ersten Aktionsstroms um ein Vielfaches und hält viele Sekunden an (Abb. 6). Diese Entladung zeigt, wie

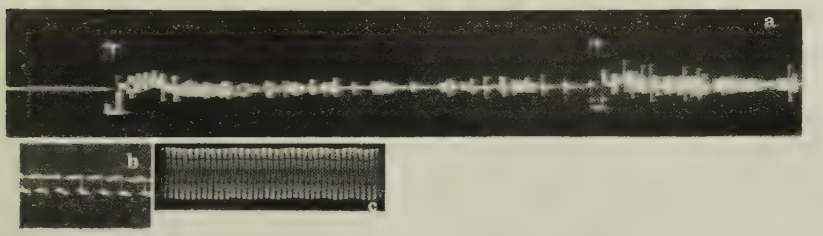


Abb. 6. Tetanische Nachentladungen nach einem etwas übermaximalen Einzelreiz des Nerven. Reizanode muskelnah, nur wenige mm vom Muskel entfernt, Reizkathode etwa 2 cm vom Muskel. Abgeleitet wird von Bauch und Sehne des Gastrocnemius. Meerschweinchen, normaler Muskel. Eichungen hierzu: $^1/_{50}$ Sek. Zeit und 0,2 mV Spannung. Es wird zweimal gereizt: zu Beginn der Entladungen und bei den maximalen Aktionen gegen Ende der Abb. Die hier liegenden maximalen Aktionsströme übersteuern den Verstärker und erscheinen daher oben und unten abgeschnitten. Die Verwaschenheit des Bildes rührt von der relativ langen Nachleuchtzeit des Philips-Oszillographen her. Bewegter Film, stehender Leuchtfleck des Oszillographen.

gesagt, der normale Muskel. An einem tetanusstarren Muskel ließ sie sich ebenfalls auslösen, war vielleicht etwas weniger leicht erschöpfbar als beim normalen Muskel, sonst aber absolut gleich. Wiederholung des Versuchs schwächt die Erscheinung bald ab, doch findet sie sich regelmäßig, wo wir sie aufgesucht haben.

Diese Nachentladung entsteht also nur unter bestimmten Bedingungen, die wir zusammenfassen: 1. das Tier muß frisch operiert sein (bis 3 Stunden nach der Operation!). 2. Anode des Reizes muß muskelnah liegen. 3. Die Anode muß ziemlich nah am Muskel liegen. 4. Der Reiz muß eben übermaximal sein; allzu starke Reize schwächen den Effekt anscheinend ab. 5. Häufige Wiederholung bringt den Effekt zum Verschwinden.

Wir haben uns bemüht, die Natur des Effektes aufzuklären, sind aber noch nicht zu klaren Ergebnissen gekommen. Wir wissen jedoch, daß der Effekt nicht im Nerven entsteht. Der Nerv zeigt bei den betreffenden Reizarten nur einen einzigen Aktionsstrom, keine Doppelwelle, wie sie zur Auslösung der Bremerschen neuromuskulären Kontraktur erforderlich

ist. Auch braucht die Kathode des Reizes nicht auf einer bestimmten Nervenstelle, etwa dem Querschnitt zu liegen; Besonderheiten der Verletzung am Nervenquerschnitt spielen also auch keine Rolle. Immerhin könnte man daran denken, daß der Reizeinbruch des Reizstoßes, der ja über den Nerven und Muskel zur geerdeten Ableiteelektrode des Verstärkers abfließt (48), und der die motorische Endplatte durchsetzt, in dieser die Schwelle erreichen könnte und erregt. Da dieser Strom im Augenblick der Reizgebung ohne Latenz fließt, so wird der durch ihn gegebene Reiz dem vom Nerven aus erregten Reiz zeitlich vorausgehen. Der Nerv nämlich wird ja an der Reizkathode erregt, also weit weg vom Muskel, und der die Endplatte erregende Nervenaktionsstrom kommt mit der Latenz der Erregungsleitung in der Endplatte an. Außer dem Reizeinbruch könnte auch eine Reizwirkung durch den Elektrotonus des Reizstromes möglich sein. Wir wissen, daß sich elektrotonische Spannungen erheblicher Größe bis zu mehreren Zentimetern im Nerven ausbreiten können. Nach dieser Hypothese würde es sich also doch um eine Doppelreizung handeln, einmal durch den kapazitiven Ausgleichsstrom des Reizeinbruchs oder den Elektrotonus, einmal durch den Nervenaktionsstrom. Daß die Anode muskelnah liegen muß, mag dabei entweder durch das notwendige Zeitintervall (d. h. die passende Leitungslatenz) der beiden Reizungen bedingt sein, oder davon abhängen, daß der Reizeinbruch oder der Elektrotonus an der Endplatte nur bei einer bestimmten Stromrichtung erregt[8]. Der Reizeinbruch ließ sich in der Tat auch mit dem Reizstrom umpolen. Welche Annahme auch zutreffe: die Erscheinung gehört einem anderen Kapitel der Elektrophysiologie an als der Wundstarrkrampf, und es muß lediglich angenommen werden, daß bei Harvey die tetanischen Muskeln wesentlich empfindlicher für diese Reizung waren als die gesunden. Wir haben zwar solche Unterschiede gerade bei diesem Versuch nicht entdeckt, wohl aber bei anderen Gelegenheiten (Beobachtung 7). Der Befund ist also als ein Grenzfall von Befund 7 zu betrachten und im Wesen auf eine mit höherer Schwelle auch am normalen Muskel vorkommende Erscheinung zurückgeführt*. Daß Harveys Versuche die oben in unseren Versuchen angegebenen 5 Bedingungen nicht alle einhalten, spricht nicht dagegen, daß unsere Erklärung der Versuche nicht auch für Harvey zuträfe. Die technische Anordnung der Apparaturen ist für den Lauf der kapazitiven Ausgleichsströme von

[8] Vielleicht gibt es auch an der Endplatte eine „funktionelle Polarität", wie das Scheminzky für die ganz antagonistische Wirkung verschieden gerichteter Ströme im ZNS nachgewiesen hat. Scheminzky: Pflügers Arch. **243**, 439 (1940).

* Anmerkung bei der Korrektur: Ein Tier mit 6 Monate altem Tetanus, das wir inzwischen beobachteten, schien den Befund Harveys zu zeigen. Sorgfältige Prüfung ergab jedoch, daß auch hier ein maximaler Nervenreiz keine Nachentladung auslöst, aber jede allzu starke Reizung sofort die Nachentladungen hervorzauberte. Dies Tier war übrigens besonders empfindlich gegen äußere Reize, zeigte aber klinisch keinen Befund mehr!

ausschlaggebender Bedeutung und geringe Änderungen im Format oder Material der Schaltapparate müssen zu ganz anderen Versuchsbedingungen führen. Im übrigen sprechen diese Versuche, bei denen eine Nachentladung gefunden wurde, u. a. auch dafür, daß unsere abweichenden Versuchsresultate nicht etwa durch Narkoseeinflüsse zustande kämen. Die Endplatte ist, wie sich hier zeigt, auch in der Narkose normal funktionstüchtig und wir haben auch früher am Frosch nie Einflüsse der Narkose auf die elektrischen Vorgänge an der Endplatte entdecken können.

Die Hypothese von der Doppelreizung als Ursache der Nachentladungen wird allerdings dadurch etwas unwahrscheinlicher, daß es uns nicht gelang, durch absichtliche Doppelreizung des Nerven mit 2 kurz aufeinanderfolgenden Reizen in variablem Abstand den Effekt hervorzurufen. Es entstanden doppelte Muskelaktionsströme, aber keine Nachentladungen. Doch haben wir vielleicht das richtige Intervall gerade nicht getroffen.

12. Beobachtung. Es muß hier noch eine Beobachtung am normalen Muskel erwähnt werden, die bei Arbeiten der vorliegenden Art zu Irrtümern Anlaß geben kann und die an anderer Stelle ausführlicher beschrieben werden soll. Wird ein Nerv in relativ großer Muskelnähe mit stark übermaximalen Reizen gereizt, so ist die Antwort des Muskels eine kurze Salve von Erregungen, die jedoch zum Unterschied der echten Nachentladung, wie sie in Abb. 6 dargestellt ist, in kurzer Zeit, spätestens mit dem Ende des Nachpotentials, das zum ersten maximalen Aktionsstrom gehört, beendet ist (Abb. 6a). Es handelt sich wahrscheinlich um eine elektrotonische Reizung der motorischen Endplatte direkt. Der Nerv zeigt in diesen Fällen nämlich ebenfalls keine Analoga dieser mehrfachen Erregung.

13. Beobachtung. Am Aktionsstrom des Warmblüters sind genau wie beim Kaltblüter zwei Anteile beteiligt, von denen der zeitlich erste, beim normalen Aktionsstrom ohne erkennbare Grenze in den zweiten überleitende Teil, nicht von mechanischen Erscheinungen des Muskels begleitet oder gefolgt ist. Für ihn scheinen die gleichen Gesetze zu gelten wie für den „Endplattenstrom“ des Froschmuskels (29). Wir rechnen ihn daher, wie an anderer Stelle ausführlicher dargetan wird, ebenfalls zu lokalen elektrischen Erscheinungen unter der motorischen Endplatte. Einen Endplattenstrom dieser Art hatte auch Eccles (17) schon am Katzenmuskel nachgewiesen. Seine Beobachtung verspricht einigen Aufschluß über die an der Nerv-Muskel-Synapse stattfindenden Vorgänge, wenngleich auch das Zustandekommen und die physikalisch-chemische Bedeutung des Stromes noch nicht als geklärt anzusehen ist. Es gibt zwei Methoden, diesen lokalen Erregungsanteil des Muskelaktionsstroms von dem Strom der sich fortpflanzenden Erregungswelle zu isolieren und zur Darstellung zu bringen: man kann die Überleitung zwischen Nerv und Muskel blockieren durch Gifte, wie z. B. das Curare; man kann die Blockade funktionell vornehmen durch andauernde Reizung mit relativ hochfrequenten Reizströmen von 100 oder mehr Reizen pro Sekunde. In beiden Fällen bleibt nach einer mehr oder weniger vollständigen Blockade der Endplattenstrom übrig. Wir haben meist den Weg der Blockade durch frequente Reize gewählt. Es zeigt sich dann, daß nach einer Reizungsdauer von einigen

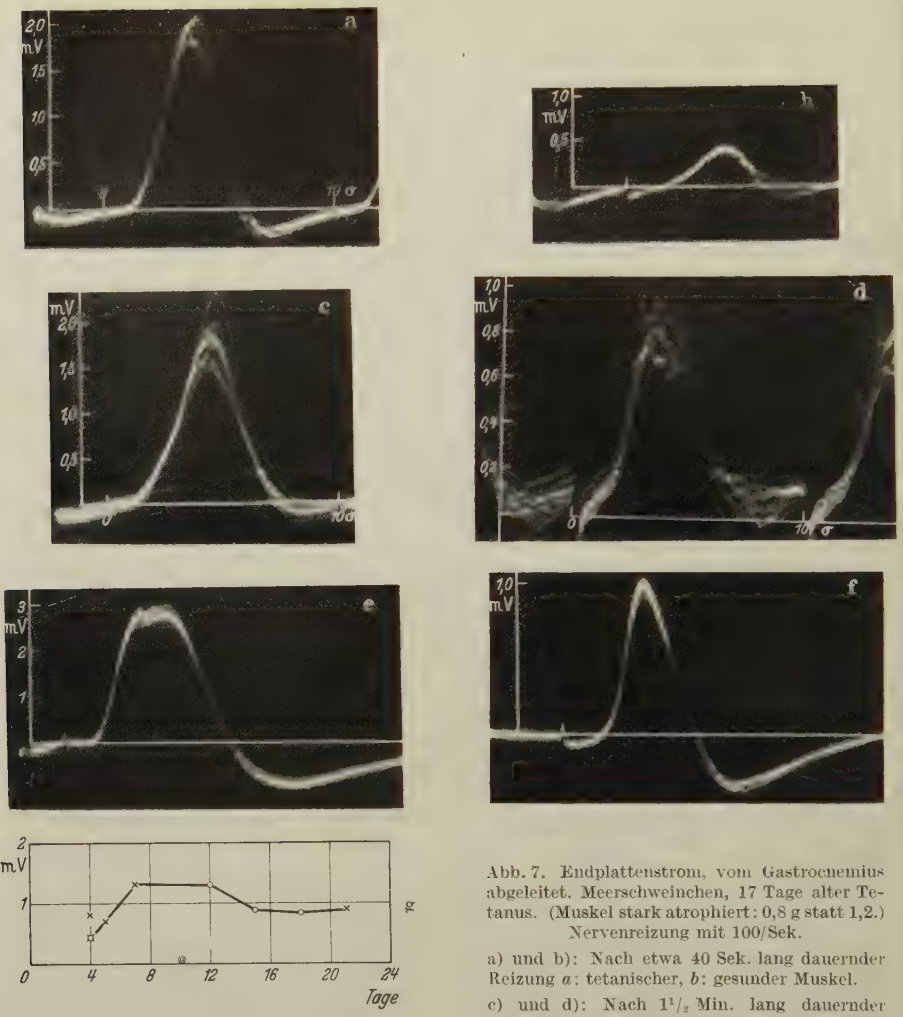


Abb. 7. Endplattenstrom, vom Gastrocnemius abgeleitet. Meerschweinchen, 17 Tage alter Tetanus. (Muskel stark atrophiert: 0,8 g statt 1,2.) Nervenreizung mit 100/Sek.

a) und b): Nach etwa 40 Sek. lang dauernder Reizung *a*: tetanischer, *b*: gesunder Muskel.

c) und d): Nach $1^1/_2$ Min. lang dauernder Reizung *c*: tetanischer, *d*: gesunder Muskel.

Beachte die Empfindlichkeit des Verstärkers (Ordinatenmaßstab!) in den einzelnen Bildern. Der kleine (in 7d etwas größere) Sprung in der Kurve vor dem Aktionsstrom deutet den Moment des Reizes an („Reizeinbruch"). In Abb. 7d ist der Aktionsstrom, der mehrfach nacheinander auf dem gleichen Film gezeichnet wird, unregelmäßig; die Kurve erscheint daher ganz verzittert. Diese Inkonstanz ist typisch für den gehemmten Aktionsstrom des gesunden Muskels. Der Augenblick der Reizgebung ist durch einen Strich über der Abszisse markiert.

e) und f): Endplattenstrom (mit Anteilen eines echten Aktionsstromes) bei 50/Sek. Reizfrequenz, nach 5 Min. langer Reizdauer. *e*) tetanischer Muskel, *f*) gesunder Muskel. Der tetanische Muskel zeigt weniger starke Diphasigkeit als Zeichen dafür, daß in der ersten nach oben gerichteten Phase relativ mehr Endplattenstrom, relativ weniger fortgeleitete Erregung steckt. Auch ist die fortgeleitete Erregung gegen den Endplattenstrom etwas verspätet und der Gipfel der Kurve dadurch verbreitert. Zeit in allen Bildern gleich, und zwar beträgt der Abstand zwischen den markierten Reizmomenten genau 10 *σ*.

g) Die Größe des Endplattenstromes tetanuskranker Muskeln in Abhängigkeit von der Dauer der Erkrankung. Die einzelnen Meßpunkte stammen von verschiedenen Tieren und sind so gewonnen, daß die Größe des Endplattenstromes teils nach 5 Min. (Kreuze), teils nach 6 Min. (Kreise) langer Reizung mit 100/Sek. ausgemessen wurde. (Der Unterschied zwischen 5 und 6 Min. Reizdauer am gleichen Tier ist unerheblich.) Es zeigt sich ein Maximum zwischen dem 7. und 12. Tag. Mit doppeltem Kreis eingetragen die Höhe des Endplattenstromes eines 10 Tage alten Tetanus, 2 Tage nach Nervendurchschneidung.

Minuten sich die elektrischen Vorgänge nur mehr sehr langsam oder gar nicht verändern: es hat sich ein elektrisches „steady state" eingespielt. Beim Vergleich der gesunden mit der tetanischen Seite fällt dann folgendes auf:

Der tetanische Muskel zeigt nach einer bestimmten Reizdauer immer einen höheren Endplattenstrom als der gesunde. Die Erhöhung schwankte zwischen dem $1^1/_2$—10fachen. Der absolute Wert kann mehrere Millivolt betragen. Bei diesen Muskeln ist der sich auf den Endplattenstrom aufsetzende Aktionsstrom der Erregungswelle immer klein und inkonstant. Es flackert einmal hie und da, oft in alternierender Weise, ein solcher Aktionsstrom auf, doch ist die Kurvenform im Laufe der Zeit relativ regelmäßig. Der gesunde Muskel dagegen zeigt trotz schwächeren Endplattenstromes eine viel lebhaftere, allerdings auch unregelmäßig aufflackernde Tätigkeit fortgeleiteter Erregungswellen. Diese machen das Bild sehr unruhig, so daß z. B. auf dem stehenden Bild in der Photographie die nacheinander ausgelösten Aktionen alle anders aussehen, sich daher nicht decken und das Bild dadurch unruhig und verzittert erscheinen lassen (Abb. 7). Dies Verhalten ist ohne Ausnahme angetroffen worden. Es folgt aus ihm, daß in der Endplatte des tetanischen Muskels lokale Erregungsvorgänge verstärkt ablaufen, weniger leicht durch frequente Reizung zur Hemmung zu bringen sind, aber trotz ihrer größeren Stärke auf den Muskel einen geringeren Effekt ausüben, da die aus der Endplatte entspringenden fortgeleiteten Erregungen beim tetanischen Muskel geringer an Zahl und Intensität sind. In Abhängigkeit vom Alter des Tetanus zeigt sich eine gewisse Gesetzmäßigkeit derart, daß die Endplattenströme mit wachsendem Alter der Erkrankung erst zunehmen, zwischen 7 und 12 Tagen ein Maximum erreichen und wieder absinken (Abb. 7g). Man wird schließen können, daß in der erwähnten Zeit die lokale Erkrankung ihren Höhepunkt erreicht.

Die Form des Endplattenstromes zeigt keine auffälligen Besonderheiten, insbesondere keine groben zeitlichen Unterschiede zwischen gesundem und krankem Muskel (vgl. Abb. 7a und b; 7c und d; 9f und i). Wohl kann der Anstieg des Endplattenstromes, wie in Abb. 7c und e, am tetanischen Muskel etwas verlangsamt sein, doch zeigt gerade das Bild 7e, wie dieser Befund zustande kommt: es hängt sich dem Endplattenstrom ein echter Aktionsstrom der Muskelfaser mit einer vergrößerten Latenzzeit an und verbreitert dadurch Anstieg und Gipfel. Im extremen Fall kommt es in Abb. 9g (hier sogar am gesunden Muskel!) zu einer Trennung von Endplatten- und Aktionsstrom.

14. Beobachtung. Der Frequenzgang der Erregungsübertragung in der Endplatte ist offenbar nicht erheblich gestört. Nimmt man in der oben geschilderten Weise die Amplitude des Muskelaktionsstromes, der vom Nerven her erregt wird, in Abhängigkeit von der Reizfrequenz auf, so zeigen sich nur geringe Unterschiede, die nicht konstant und daher nicht charakteristisch sind. Entweder bleibt, wie Abb. 8a und b zeigt, der Frequenzgang

durch den Tetanus völlig unbeeinflußt, in diesem Fall bei rund 70/Sek. den ersten Abfall in der Amplitude zeigend. Oder es kommt dazu, daß der Tetanusmuskel zwar einen sehr frühen Abfall zeigt (in Abb. 8c schon bei 20—30/Sek.), den der gesunde Muskel (Abb. 8d) zunächst nicht hat. Wird aber der gesunde Muskel mäßig ermüdet, so zeigt er nunmehr den gleichen

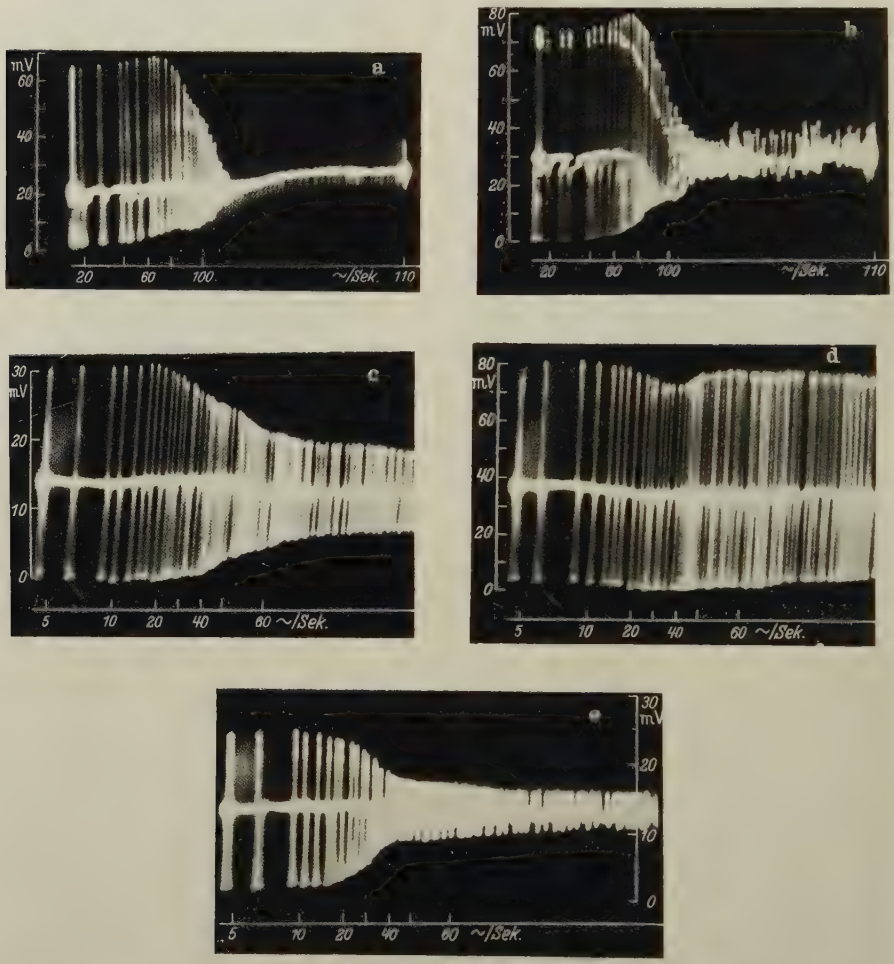


Abb. 8. Frequenz—Amplitude—Kennlinie des Aktionsstromes vom Gastrocnemius. Abgeleitet Muskelbauch gegen Achillessehne. Abszisse ist die Reizfrequenz, Ordinate die bei den verschiedenen Frequenzen erzielbare Amplitude des Aktionsstromes.

a) und b): Katze, 15 Tage alter Tetanus. *a*) tetanischer Muskel, *b*) gesunder Muskel. Amplitude des tetanischen Muskels nur wenig kleiner; er zeigt ganz regelmäßigen Verlauf des Amplitudenabfalls, während der gesunde Muskel (Abb. 8b) Unregelmäßigkeiten zeigt. Wahrscheinlich spielt stärkere Hemmung beim tetanischen Muskel mit.

c), d) und e): Meerschweinchen, 7 Tage alter Tetanus. *c*) tetanischer Muskel, *d*) normaler Muskel bei der ersten Aufnahme der Kennlinie. Es ist ein Abfall der Amplitude nur vorübergehend angedeutet; *e*) nach mehrfacher Wiederholung der Messung am selben gesunden Muskel: die Kennlinie hat sich durch Ermüdung der des kranken Muskels angeglichen.

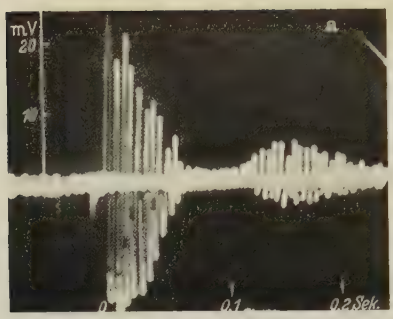
Frequenzgang (Abb. 8e). Also wäre das abweichende Verhalten des Tetanus einer Ermüdung des Muskels gleichzusetzen, was sehr verständlich ist.

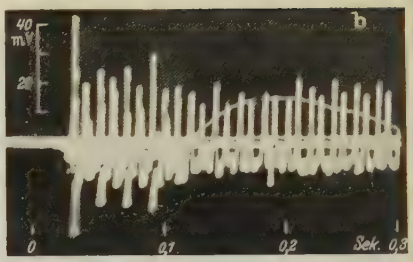
Die Ströme in dem nicht mehr folgenden Frequenzgebiet (rechter Teil der Kurven in Abb. 8) zeigen auch keine besonderen Gesetzmäßigkeiten. Es kann daraus geschlossen werden, daß das Tetanusgift zwar geringe Einflüsse auf die Übertragungsfunktion in der Endplatte haben kann, daß diese Einflüsse aber auch ganz fehlen können und daß daher eine Beeinträchtigung des elementaren Überträgermechanismus in der Endplatte aller Wahrscheinlichkeit nicht vorliegt. Aus Gründen der Analogie dürfte dieser Befund auch für alle anderen Synapsen gelten.

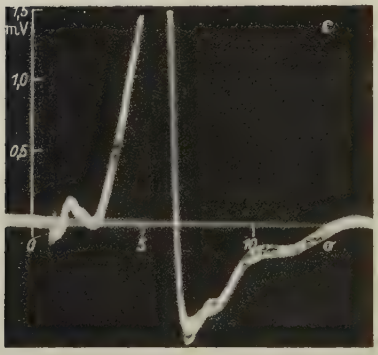
15. Beobachtung. Ähnliches läßt sich von der sogenannten Wedensky-Hemmung sagen. Nach Einschaltung einer konstanten Reizfrequenz sinkt die Amplitude des Aktionsstromes mit der Zeit ab (Abb. 9). Beim Meerschweinchen ist dieses Absinken am tetanischen Muskel eher weniger rasch und stark als am gesunden. Bei der Katze (in beiden Fällen Gastrocnemius) kann man das umgekehrte Verhalten sehen: die Hemmung ist am kranken Muskel stärker. Es ist dabei allerdings schwer zu beurteilen, ob die nach eingetretener Hemmung übrig bleibenden Anteile echte fortgeleitete Erregungswellen sind, oder ob es sich hier nur um lokale Endplattenströme handelt, die also unter der motorischen Endplatte lokalisiert bleiben. Da die Endplattenströme am tetanischen Muskel immer stärker sind als am gesunden, wird der nach Hemmung übrig bleibende Teil wohl am tetanischen Muskel vorwiegend Endplattenstrom sein. So erklärt sich das bei Meerschweinchen etwas inkonstante Verhalten: wenn die Hemmung am tetanischen Muskel weniger stark scheint, so wohl durch die stärkeren Endplattenströme. Hier würden mechanische Untersuchungen vielleicht weiterführen, doch versprechen sie keinen unmittelbaren praktischen Erfolg und wurden daher zunächst beiseite gestellt.

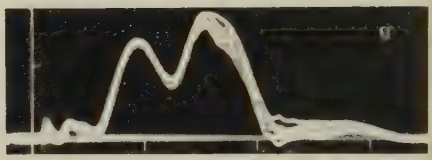
Der erhöhte Endplattenstrom des tetanischen Muskels hält sich, wie das die Abb. 7 u. 9 zeigen, bei andauernder Reizung länger als der des gesunden Muskels. Im Grunde ist also die Vergrößerung zunächst eine verminderte Ermüdbarkeit; besonders kraß wird dieser Unterschied der Ermüdbarkeit an Endplatten, die durch Nervendurchschneidung schon in Degeneration begriffen sind. Hier verschwindet der Endplattenstrom sehr rasch bei rhythmischer Reizung, der tetanische Muskel jedoch behält den Endplattenstrom sehr viel länger als die gesunde Seite; der Nerv war auf beiden Seiten zu gleicher Zeit durchschnitten worden.

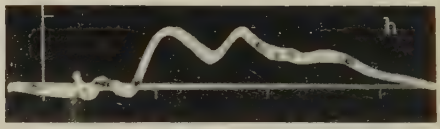
Die erhöhte Amplitude des Endplattenstromes sagt jedoch nichts über ihren Reizwert aus, wie nochmals betont sei. Durch Anoxämie z.B. ist der tetanische Muskel viel leichter indirekt unerregbar zu machen als der gesunde, obgleich er die höheren Endplattenströme hat. Es kommt in allen Fällen auf das Verhältnis von Endplattenstrom zu Muskelfasererregbarkeit an; dieses allein bestimmt die Überleitung des Impulses.

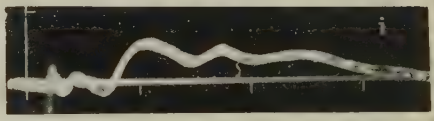


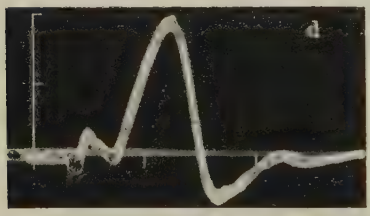


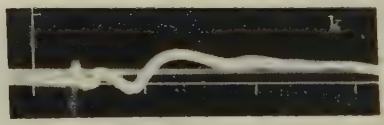


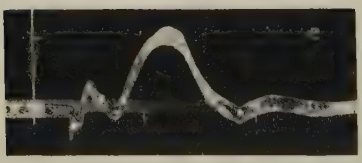












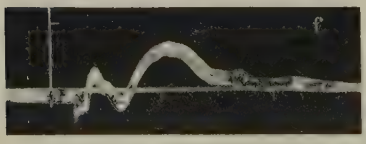


Abb. 9. Darstellung der Wedensky-Hemmung nach Einschaltung frequenter Reize, mit zwei verschiedenen Zeitgeschwindigkeiten geschrieben.

a) und b): Katze, 15 Tage alter Tetanus. Tier von Abb. 8c, d. Langsame Zeitschreibung. Der einzelne Aktionsstrom erscheint nur als Strich. Zeitmarken in 0,1 Sek. a) tetanischer Muskel. Die Aktionsströme vermindern schon nach dem ersten Reiz ihre Amplitude, gehen fast auf Null und wachsen dann wieder (sogenannte „überschießende Hemmung"), um wieder zu einem kleinen Amplitudenwert abzunehmen. b) gesunder Muskel; es tritt sofort Alternans ein, wodurch die Amplitude nur wenig absinkt. (Beachte die kleinere Empfindlichkeit der Ordinatenschreibung!) Zeit in 0,1 Sek. Überschießende Hemmung fehlt fast ganz.

c) bis k): Das gleiche Tier wie a) und b). Die Entwicklung des Aktionsstromes im Laufe einer langsam einsetzenden Hemmung bei 50 Sek. Reizfrequenz und schneller Zeitschreibung. Es kristallisiert sich langsam der Endplattenstrom heraus. Zeit für c) bis k) gleich in 5 σ; Ordinate für c) bis k) in 0,5 mV. c), d), e) und f): Der tetanische Muskel nach 13, 20, 30 und 60 Sek. langer Reizung mit 50 Sek. Frequenz. Beachte den allmählichen Verlust der Diphasizität und Übergang in den fast reinen Endplattenstrom (monophasisch!) der Abb. 9f. Der erste kleine und in allen Bildern konstante Buckel ist ein Abbild des Aktionsstromes der intramuskulären Nerven.

g), h), i) und k): Dasselbe, nach den gleichen Reizdauern, am gesunden Muskel. Hier setzt sich schon in Abb. 9g der Endplattenstrom gegen einen fortgeleiteten Aktionsstrom deutlich ab. Insgesamt sind die Endplattenströme kleiner als am kranken Muskel.

Eine Besonderheit bei der Wedensky-Hemmung scheint mir wichtig: Nach Einschalten der Reizfrequenz (es handelt sich natürlich immer um Reizung des Nerven!) sinkt die Amplitude des Aktionsstromes sehr rasch fast auf Null, steigt dann aber im Laufe der Zeit wieder etwas an. Wir sprechen bildlich von einem „Überschießen" und wollen die Erscheinung „überschießende Hemmung" nennen. Ihr Seitenstück wird beobachtet, wenn man von einer hohen Reizfrequenz plötzlich auf eine niedrigere übergeht. Es erhöht sich dann durch Senkung der Frequenz der Aktionsstrom sofort bedeutend, schießt aber auch hier übers Ziel hinaus und geht nach kurzer Zeit auf einen immer noch erhöhten, doch gegen das Maximum vorher etwas niedrigeren Wert zurück. („Überschießende Bahnung".) Beide Erscheinungen sind am tetanusstarren Muskel deutlicher ausgeprägt als am normalen (Abb. 9a).

V. Einige Beobachtungen über den zentralen Anteil des Tetanus.

16. Beobachtung. Schon bei geringer Überdosierung des Toxins wurde echter aszendierender Tetanus beobachtet. Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit zahllosen Angaben der Literatur. Auch die Reihenfolge, in der die Muskeln ergriffen wurden, ist die übliche: Rechtes Bein gespritzt, dann linkes Bein, rechte Bauchmuskeln, darauf Vorderpfote (in einem Falle linke Vorderpfote!) befallen. Interessant ist das Verhalten dieser sekundär starr gewordenen Extremitäten.

Die Versteifung der sekundär starren Glieder äußert sich zunächst nur in der abnormen Haltung. Die passive Beweglichkeit ist dabei im vollen Umfang erhalten. Später jedoch tritt auch an den sekundär starren Gliedern eine eingeschränkte passive Beweglichkeit ein. Nach Nervendurchschneidung schwindet diese Starre aber völlig. Allerdings haben wir bislang aus Gründen, die im Tier liegen, nur 3 Tage alte sekundäre Tetani beobachten können. Der sekundär starre Muskel ist nach Nervendurchschneidung nicht mehr überempfindlich gegen äußere Reize. Er liefert z. B. keine „spontanen" Aktionsströme bei Reizen, welche den normalen Muskel in Ruhe lassen und weicht daher von dem peripher erkrankten Muskel, wie ihn die Beobachtungen in Teil II—III schildern, wesentlich ab. Es finden sich also, mit anderen Worten, am sekundär erstarrten Muskel zunächst keinerlei Anzeichen einer peripheren Erkrankung. Die Tatsachen sind zu verstehen durch die Annahme, daß diese Starren durch verstärkte tonische Impulse des ZNS zustande kommen.

17. Beobachtung. Wird bei intaktem Nerven das Spiel der „spontanen“ Muskelaktionsströme beobachtet, so zeigt die tetanisierte Seite häufig eigentümliche Rhythmenbildung, welche auf der gesunden Seite fehlt (Abb. 10). Diese Gruppen sind offenbar zentral erzeugt und erinnern an einen Befund von Kayser (33), nach dem unregelmäßig in das Spinalganglion eintretende sensible Impulse hinter dem Spinalganglion zu Gruppen synchronisiert und zusammengerückt sind. Vielleicht liegt in unserer Beobachtung das motorische Abbild solcher Gruppen vor, die aus den

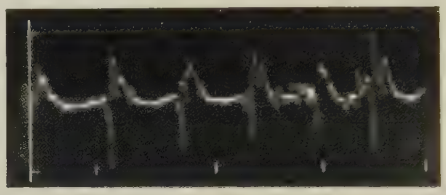


Abb. 10. Gruppenbildung eines durch sensible Reize ausgelösten Reflextetanus: Muskelaktionsströme des Gastrocnemius. Leichte Äthernarkose neben leichter Pernoctonnarkose. Bei nicht gereiztem Bein herrscht absolute Ruhe; die gesunde Seite zeigt die Gruppen nicht. Katze, 11 Tage alter Tetanus. Zeitteilung in 0,1 Sek., Ordinatenteilung in 1 mV.

verstärkt einströmenden propriozeptiven Impulsen des tetanischen Muskels im Spinalganglion gebildet worden sind.

18. Beobachtung. Wir haben nun einige Tiere beobachtet, bei denen eine Toxinmenge, die keinen zentralen Tetanus hervorrief, schon 4 Wochen vor der Beobachtung injiziert worden war. An solchen Tieren zeigte mehrfach die gesunde Seite Erscheinungen, die wir sonst nur von peripher tetanischen Muskeln kennen und die wir niemals bei völlig gesunden Tieren oder an der gesunden Seite von Tieren mit kürzerer Inkubationszeit gesehen haben.

Es sei an dieser Stelle bemerkt, daß das Verhalten des gesunden Tieres uns aus zahlreichen Kontrollen bekannt ist, da wir in anderem Zusammenhang normale Tiere untersuchen mußten. Die nicht gespritzte Seite der Tetanustiere zeigte ein dem gesunden Tier völlig analoges Verhalten, sowohl was Form wie Höhe der Aktions- und Endplattenströme anlangt, als auch bei allen anderen elektrischen und nicht elektrischen Versuchsanordnungen.

Die krankhaften Erscheinungen an solchen Muskeln waren: erhöhter Endplattenstrom mit den typischen kleinen, rasch erlöschenden Aktionsströmen, die der Kurve das ruhige Aussehen gaben (vgl. Abb. 7). Es fand sich ferner die starke Empfindlichkeit gegen geringere äußere Reize, wie z. B. die Auslösung zahlreicher spontaner Aktionsströme nur schon bei Anheben des Nerven und Auflegen auf die Elektroden. In einem Falle war sogar der Endplattenstrom auf der „gesunden“ Seite wesentlich höher als auf der gespritzten, wobei allerdings zu beachten ist, daß die sehr alten Tetanusmuskeln enorme Atrophie zeigen und daher ihre Aktionsspannung abgesunken sein kann. Die „gesunden“ Muskeln zeigten jedoch sicher einen

krankhaften Befund, wie der Vergleich mit den Aktionsströmen ganz normaler Tiere zeigt. Es handelt sich also nicht um eine Täuschung durch Vergleich mit dem atrophierten Tetanusmuskel!

VI. Versuche an Fröschen.

Nach einer alten Meinung wirkt das Tetanustoxin nur am Warmblüter. Daß diese Annahme irrig ist, beweisen ältere Versuche von Fröhlich und Meyer und Zupnik. Sogar die Annahme einer ziemlich hohen Temperaturgrenze, unterhalb deren eine Tetanisierung nicht erfolgt, scheint unter bestimmten Umständen nicht zuzutreffen. Marie und Morax konnten das Toxin noch bei 13—18° C zur Wirkung bringen. Wir haben dergleichen nicht beobachtet, doch mögen einige Befunde, die wir ganz am Rande und ohne Systematik erhoben haben, kurz erwähnt sein.

19. Beobachtung. Wir haben Winterfröschen, die schon recht atrophisch waren, kleine und große Toxinmengen gespritzt und beobachteten, daß alle Tiere, die sich zufällig dem Sonnenschein augesetzt befanden, nach etwa 12 Stunden in völligen Streckkrampf verfallen waren. Die wirksame Toxinmenge betrug minimal 0,1 ccm einer $1^0/_{00}$igen Verdünnung der schon erwähnten Ausgangslösung. Die Temperatur des Wassers in den Froschbehältern lag zwischen 32 und 35° C. Ein bereits vorgewärmtes Tier wurde mit der extrem hohen Dosis von 0,1 ccm einer 10%igen Toxinverdünnung gespritzt. Diese Dosis, die also genügt haben würde, 200000 g Mäuse zu töten, brachte den Frosch in 1—2 Minuten in einen totalen Streckkrampf. Dieser Krampf war zum erheblichen Teil peripher: er bestand nach Nervendurchschneidung fort. Der ausgeschnittene starre Muskel zeigte keine spontanen Aktionsströme und bei indirekter Reizung einen sehr kleinen Aktionsstrom. Die von Harvey beschriebenen Nachentladungen zeigte er ebenfalls nicht. Es hat sich also um eine echte Kontraktur gehandelt, die durch extreme Toxinmengen ausgelöst war.

Ein anderer, mit der gleichen extremen Dosis behandelter Frosch wurde kalt gelassen, getötet, ein Ischiadicus-Gastrocnemiuspräparat hergestellt und das Präparat durch einen Heizstrahler erwärmt. Die Temperatur der Präparate und Tiere wurde mit einem Thermoelement kontrolliert. Das erwärmte Präparat zeigte jetzt starke Nachentladungen nach einem indirekten Einzelreiz. Ein normaler Kontrollfrosch, auf gleiche Weise behandelt, zeigte die Nachentladungen nicht. Leider waren diese Tiere die letzten einer Serie von überwinterten Fröschen. Der Versuch, die Erscheinungen an frischen Frühjahrsfröschen zu wiederholen, mißlang völlig. Es muß also offenbar eine gewisse Disposition zum Tetanus durch die allgemeine Entkräftung (Ca-Änderung im Blut?) gegeben sein.

VII. Besprechung der Versuche.

Die umfassende elektrische Untersuchung des tetanusstarren Muskels hat uns zunächst erkennen lassen, daß die zahlreichen Widersprüche in der Literatur dieses Themas in zwei Dingen begründet sind: in der Un-

vollkommenheit älterer technischer Methoden und in dem sehr verschiedenartigen Verhalten des Muskels selbst, wenn man ihn in verschiedenen Phasen der Erkrankung untersucht. Wir haben in den voraufgehenden Abschnitten unsere Befunde ohne Rücksicht darauf geschildert, ob Gleichartiges früher bereits beschrieben wurde oder nicht. Mit unserer Technik wurde das Problem bislang nur von Harvey angegangen, und gerade seine Befunde haben wir nicht als wesentlich für den Tetanus ansehen können.

Aus unseren Versuchen geht ebenso wie aus den Arbeiten von Abel und seinen Mitarbeitern und Harvey unzweifelhaft die vorwiegend periphere Natur des lokalen Tetanus hervor. Wir können diese peripheren Vorgänge dem Mechanismus und dem Alter nach offenbar in zwei Gruppen einteilen. Daß der frühe Tetanus etwas anders ist als der späte, gibt schon Zupnik an. Der frühe Tetanus, etwa in den ersten 3 Tagen der manifesten Erkrankung, kommt vorwiegend durch Beteiligung des Rückenmarks zustande, wie die Aufhebbarkeit der Erscheinungen durch Nervendurchtrennung, Narkose (Zupnik) und Curare (8) beweist. Nach einigen Tagen jedoch entwickelt sich eine Starre, die ohne Beteiligung des Rückenmarks bestehen bleibt und daher sicher vorwiegend peripherer Natur sein muß. Auch spricht die Veränderung am Aktionsstrom der motorischen Endplatte für den peripheren Sitz der Erkrankung: es ist offenbar die Endplatte selbst geschädigt. Allerdings braucht die Erkrankung nicht auf sie beschränkt zu sein. Der sichere Befund, daß es Starren ohne Aktionsstrom gibt, von Liljestrand und Magnus (37) und Fröhlich und Meyer (28) zwar behauptet, doch technisch unzulänglich bewiesen, zeigt an, daß die periphere Starre des Tetanusmuskels eine Kontraktur darstellt. Diese Kontraktur ist, was die elektrischen Vorgänge anlangt, mit den üblichen chemischen Kontrakturen gleichzusetzen, die ja auch stromlos verlaufen. Derartige chemische Kontrakturen machen bekanntlich viele Protoplasmagifte wie Basen, Säuren, Chloroform und auch (abgesehen von einer gleichzeitigen kontraktionsähnlichen, mit Aktionsstrom verlaufenden Zuckung) das Azetylcholin. Gerade das Azetylcholin zeigt damit ein Doppelgesicht: es wirkt sowohl auf den elektrischen Überträgerapparat und damit analog einem Nervenimpuls, als auch unmittelbar und ohne Erzeugung eines Aktionsstroms auf die kontraktile Substanz [Brown (9)]. Endlich ist die Kontraktur durch allseitige Kompression (Ebbecke und Hasenbring) zu erwähnen, die nach Versuchen von Ebbecke und Schaefer ebenfalls ohne Aktionsstrom abläuft. Von dieser letzten Kontrakturform wissen wir, daß chemische Vorgänge derselben Art sie begleiten, wie sie auch die normale, vom Nerven her erregte Zuckung auslöst (Deuticke und Ebbecke). Wir beabsichtigen, diese chemischen Untersuchungen auch auf die lokale Starre beim Tetanus auszudehnen.

Es wäre dennoch falsch, aus der Beteiligung des Rückenmarks an den Frühstadien der Starre auf eine Giftwirkung am Rückenmark zu schließen. Bekanntlich setzt die klassische Theorie des Tetanus voraus, daß die

Giftwirkung ausschließlich zentral angreift, und zur Erklärung vieler Erscheinungen wurde die Hypothese von der Giftwanderung im motorischen Nerven ersonnen (Meyer und Ransom). Sensible Nerven sollen das Gift nicht leiten (Doerr Seidenberg und Koppisch), was nicht gerade für die Theorie spricht, denn anatomische Unterschiede so tiefgreifender Art zwischen den beiden Nerven, welche das Ergebnis erklären könnten, sind uns nicht bekannt. Auch die Versuche, Blockaden für die Strömung des Toxins im Rückenmark zu schaffen und den Eintritt des Tetanus dadurch zu verhindern (Ponomareff), dürften wenig beweiskräftig sein. In den Arbeiten von Abel findet sich eine eingehende Kritik. Die Tatsachen erklären sich leichter auf einer Grundlage, die schon von Liljestrand und Magnus erarbeitet wurde. In diesen Versuchen schwand die Starre wenigstens zum Teil durch Injektion von Novokain, also durch Lähmung der Muskelsensibilität. Leider wirkt Novokain nicht spezifisch allein auf die sensiblen Elemente. Durch unsere Beobachtung starker sensibler, also zentripetaler Impulse auf der tetanischen Seite des Tieres steht jedoch außer Zweifel, daß diese sensiblen Impulse den zentralen Anteil der Starre erklären: er ist reflektorisch ausgelöst.

Damit sind beide Stadien der Starre, das reflektorisch erregte Frühstadium und das durch Kontraktur bedingte Spätstadium auf rein periphere Momente zurückgeführt. Das gleiche dürfte auch für diejenigen Formen des Tetanus gelten, welche als Spättetanus bezeichnet werden und monatelang nach abgeheilter Erkrankung als lokale Starren bestehen bleiben. Daß eine sensible Lähmung in späten Stadien die dann eingetretene Kontrakturstarre nicht aufhebt, versteht sich auch; dieser Befund von Fröhlich und Meyer ist also erklärt, obgleich er anderen Angaben zu widersprechen scheint. Hier spielt der Zeitfaktor eine Rolle.

Schwierig zu deuten ist die Natur der sogenannten „Dynamischen Aktivierung" durch multiple Injektion unterschwelliger Toxinmengen, die sich zu manifesten Wirkungen summieren (Doerr u. Seidenberg). Mangels aller Beobachtungen am Substrat direkt muß man offenlassen, ob eine solche Aktivierung durch sensible Impulse und deren Summation im Rückenmark oder doch durch direkte Einwirkung der Toxinmengen von der Blutbahn her zustande kommt. Daß dabei Giftmengen, die an sich, alle zusammengenommen, bei einzeitiger Injektion unterschwellig werden, bei wiederholter Injektion sich doch zur Wirksamkeit bringen können, wäre denkbar und hätte chemische Parallelen (vgl. Meyer u. Loewi).

Ein Übergreifen des Giftes auf die Extremitäten der anderen Seite ist durch Beobachtung 18 an alten Vergiftungen unmittelbar nachgewiesen, für frische Vergiftungen andererseits ausgeschlossen worden. Man kennt hier gewiß noch nicht alle Gesetzmäßigkeiten. Vielleicht wirken kleine Giftmengen langsamer als große. Immerhin scheint es latente periphere Giftwirkungen zu geben, die sich dann nach langer Zeit mit entsprechend feinen Methoden nachweisen lassen und die vielleicht stärker beachtet werden sollten, als man das heute tut.

Der Mechanismus der Giftwirkung ist ein noch nicht ganz geklärtes Kapitel. Ein Fingerzeig liegt in Beobachtung 4, daß mit der Degeneration des Nerven und der Endplatte die Starre schwindet. Es ist also eine funktionierende Endplatte auch für den Bestand der peripheren Tetanuskontraktur unerläßlich; das läßt daran denken, daß ein in der Endplatte verankerter Mechanismus die Starre auslöst. Es liegt nahe, die verschiedenen uns bekannten Starren auf ihre Ähnlichkeit mit dem Tetanus zu prüfen, um hieraus Anhaltspunkte für die theoretische Deutung zu gewinnen. Die für uns selbst interessanteste Starre war die Veratrinkontraktur, die durch Eichler (19) und Eichler und v. Hattingberg (20) in enge Beziehung zur myotonischen Kontraktur gebracht worden ist. Die Veratrinkontraktur und nach dem Befund Harveys auch der Tetanus lassen ja nach einer einzelnen indirekten Reizung in der Endplatte „spontane" Aktionssalven langer Dauer entstehen. Solche Salven können z. B. sehr wohl ein Modell der Reflexübererregbarkeit im Rückenmark sein; jeder sensible Reiz bedingt eine übertrieben lange motorische Entladung. Kommt dann noch die Aufhebung jener „synaptischen Isolierung" dazu, die normalerweise eine hemmungslose Ausbreitung über das ZNS verhindert, so ist das klinische Erscheinungsbild des zentralen Tetanus recht gut nachgeahmt: Veratrin und Strychnin sind die beiden Modellgifte. Der periphere Tetanus läßt sich aber weder durch Strychnin noch durch Veratrin nachahmen. Es scheint uns nicht wahrscheinlich, daß Mechanismen, die durch das gleiche Gift verursacht sind, im Zentrum mit Veratrin-Strychnin-Wirkungen, in der Peripherie aber nicht mit solchen zu vergleichen seien. Von allen pharmakologischen Substanzen nun ahmt das Azetylcholin die Erscheinungen des Tetanus in Zentrum und Peripherie am besten nach. Wir richten daher unsere Aufmerksamkeit zunächst hierhin.

Azetylcholin wirkt, als Potentialstoff, zunächst je nach seiner Dosierung vollkommen verschieden. In richtiger Dosis kann es in der motorischen Endplatte sehr wohl bewirken, daß eine ankommende Nervenerregung zahlreiche Salven von „spontanen" Erregungen im Muskel noch lange Zeit nachher auslöst; und zwar macht Eserin oder Prostigmin, auch nach eigenen Versuchen, diesen Effekt [Feng (21); Feng, Li und Ting (24)]. Die Eserinwirkung ist hierbei offenbar eine indirekte; sie geschieht nach allen unseren Vorstellungen durch Hemmung der Cholinesterase. Die „Nachentladungen" sind also im Modellversuch durch Hemmung der Cholinesterase, also durch eine verstärkte Anhäufung von Azetylcholin in den Synapsen, nachzuahmen. Man darf nun nicht annehmen, daß eine Injektion von Azetylcholin in der entsprechenden Dosis einen Tetanus verursachen müßte. Potentialstoffe wirken durch lokale Konzentrationsgefälle, nicht durch die bloße Erhöhung der absoluten Konzentration[9]

[9] In diesem Punkte gleichen die Potentialstoffe völlig dem elektrischen Reizstrom, der auch ein Potentialgefälle, räumlich und zeitlich, braucht, wenn er erregen soll.

(Lit. vgl. Gremels); es ist aber ganz unmöglich, durch Injektion in die Blutbahn lokale Konzentrationsänderungen an den Synapsen zu erzeugen. Das kann nur ein Nervenimpuls, der ganz spezifische Wirkungen an der Synapse allein auslöst. Daß an allen Synapsen aber bei der Erregung Azetylcholin frei wird, ist durch viele Arbeiten aus der Schule Dales bewiesen [Lit. bei Eccles (18)].

Das Azetylcholin macht aber auch lokale Kontrakturen [Brown (9)]. Andererseits ist eine funktionstüchtige Endplatte erforderlich, sonst bildet sich kein Azetylcholin. Das Verschwinden der Starre mit einsetzender Degeneration nach Nervendurchschneidung [Beobachtung 4; Abel (4); Courmont und Doyon; Fröhlich und Meyer; Ransom] erklärt sich nach dieser Hypothese sofort.

Eine interessante Parallele aus unseren jüngsten Untersuchungen sei hier noch angeführt. M. Kahn fand an unserer Abteilung in noch nicht veröffentlichten Untersuchungen, daß Azetylcholin am Herz-Streifenpräparat den Elektrotonus sehr stark erhöht, gleichzeitig aber auch die Schwelle heraufsetzt. Würde das Azetylcholin am Säugermuskel ähnliche Wirkungen machen (was noch nicht untersucht ist), so ließe sich der erhöhte Endplattenstrom bei verminderter indirekter Erregbarkeit ohne weiteres verstehen: der Endplattenstrom wurde ja von uns (52) als die durch den Nervenaktionsstrom bedingte elektrotonische Aufladung der Muskelfaser unter der Endplatte betrachtet. Ist diese Muskelregion durch Azetylcholin zu einer stärkeren Polarisierbarkeit und damit zu größerem Elektrotonus gebracht, so müßte dieser polarisatorisch bedingte Endplattenstrom anwachsen, und zwar, analog dem Herzen, ohne den Reizeffekt zu verstärken. Es bleibt abzuwarten, ob diese Deutung sich aufrechterhalten läßt. Sie deutet jedoch auf die primäre Wirkung des Azetylcholins hin.

Die Anhäufung des Azetylcholins würde durch das Tetanusgift bedingt sein. Da sie normalerweise durch die Cholinesterase verhindert wird, liegt der Schluß nahe, daß das Toxin die Cholinesterase vergiftet. So sehr dieser Gedanke auch wahrscheinlich ist: allein mit dieser Giftwirkung kann der Tetanus doch nicht erklärt werden. Denn der Esterasegehalt vergifteter Muskeln ist nicht vermindert (Martini, Torda und Zironi) und die unveränderten Werte von Wedensky-Hemmung und Kennlinien sprechen auch dafür, daß in der Peripherie des Muskels die Azetylcholinwirkung nicht so unmittelbar vorzustellen ist. Denn Azetylcholin bringt in hoher Dosierung starke Hemmung hervor [Brown (10); Feng (21); Feng, Li und Ting (25)]; eben diese fanden wir aber nicht immer. Natürlich kommt hier das Problem der Dosierung wieder hinzu. Doch müssen uns weitere Versuche lehren, wie die Azetylcholinwirkung kompliziert ist. Wir beabsichtigen daher zunächst, Cholinesterase selbst auf ihre Wirkung am normalen und kranken Muskel zu prüfen. Hierüber ist noch gar nichts bekannt. Wir wollen dann die große Zahl pharmakologischer Einflüsse durchprüfen, wobei uns zahlreiche Arbeiten von Feng die Vorarbeit am normalen Muskel weitgehend abgenommen haben.

Die Azetylcholinwirkung, wie sie durch Eserin hervorgerufen werden kann, hat auch das vom Tetanus her bekannte doppelte Gesicht: neben einem „nervösen" Anteil zeigt sie eine Kontraktur, bei der das Azetylcholin am kontraktilen Proto-

plasma direkt angreift. Der „nervöse" Anteil aber besteht darin, daß eine ankommende einzelne Erregungswelle an der mit Azetylcholin (oder Eserin) vergifteten Synapse in einen Tetanus transformiert wird. Dieser letzte Anteil ist naturgemäß durch Curare, Atropin, Novokain zu beseitigen [Feng u. Shen (23)]. Eben diese Pharmaka beseitigen ja auch den reflektorischen Anteil des lokalen Tetanus, der eben auch ein „nervöser" Anteil ist.

Der Überträgermechanismus der Synapsen ist in der Phänomenologie heute weitgehend bekannt, in der Kausalkette herrschen noch zahlreiche Unklarheiten. Der Streit, ob die Erregungsübertragung von Organ zu Organ rein elektrisch oder rein chemisch betrachtet werden soll, ist noch nicht entschieden, wenn wir selbst auch glauben möchten, daß der Primitivmechanismus rein elektrisch ist, diesem sich aber ein chemischer Regulationsmechanismus beigesellt [vgl. Schaefer (46)]. In Hinblick auf den Tetanus wird man vielleicht sagen dürfen, daß der Primitivmechanismus ganz intakt bleibt, aber die chemischen Faktoren der Regulation schwer verändert werden. Da wir nun zu fast allen chemisch wirksamen Agonisten in der Physiologie der Endplatte Antagonisten kennen, so ist zu hoffen, daß eine systematische Prüfung der Synapsengifte uns weitere tiefe Einblicke in das Wesen des Tetanus und therapeutische Möglichkeiten relativ rasch eröffnet.

Zusammenfassung.

Es werden die wesentlichen Erscheinungen des „lokalen" Tetanus nach peripherer Injektion von Toxin mit modernen elektrischen Methoden untersucht und Widersprüche der Literatur geklärt. Nachprüfung älterer Befunde und eigene Versuche ergeben folgendes Bild:

1. Mechanische Erscheinungen. Der lokale Tetanus besteht in einer Muskelstarre, die in den ersten Tagen große, später sehr geringe passive Beweglichkeit aufweist. Die Starre bleibt nach Nervendurchschneidung, wenn sie alt genug ist. Der tetanische Muskel atrophiert im Laufe der Zeit. Nach Nervendurchschneidung zeigt der Muskel keine mechanischen Oszillationen (Muskelton), obwohl er starr ist. Die Starre schwindet jedoch 2—3 Tage nach der Nervendurchtrennung. Die Hubhöhe des starren Muskels ist verkleinert.

2. „Spontane" elektrische Erscheinungen. Bei erhaltenem Nerven zeigt der tetanische Muskel stärkere tonische Impulse als der gesunde. In tiefer Narkose können aber alle Impulse schwinden; hierbei bleibt die Starre. Nach Nervendurchschneidung und großer Schonung des Präparats zeigen sich keine Muskelaktionsströme, obgleich die Starre fortbesteht. Die Starre besteht also großenteils aus einer aktionsstromlosen Kontraktur des Muskels und ist unabhängig vom Zentralnervensystem. Frisch vergiftete Muskeln zeigen eine Starre, die nach Nervendurchschneidung verschwindet; sie ist durch starke sensible propriozeptive Impulse aus dem kranken Muskel reflektorisch bedingt. Der tetanische Muskel ist gegen äußere Reize sehr empfindlich; es entstehen leicht „spontane" Erregungen in seiner motorischen Endplatte bei kleinsten Reizen.

3. Aktionsstrom bei künstlicher Reizung. Es werden die Ströme, welche bei der lokalen Erregung unter der motorischen Endplatte entstehen, oszillographiert. Sie sind am tetanischen Muskel immer erheblich größer als am gesunden und zeigen zwischen dem 7. und 12. Tag der Erkrankung ein Maximum. Dennoch ist der Muskel von ihnen weniger leicht in Erregung zu setzen, wenn rhythmisch mit 50—200/Sek. gereizt wird. Der Aktionsstrom des kranken Muskels selbst ist verkleinert, zeigt bei der Katze erhöhte Hemmung bei rhythmischer Reizung. Die Durchlässigkeit der motorischen Endplatte für frequente Erregungen bleibt praktisch normal; die frequenzabhängigen Eigenschaften des Muskelaktionsstroms (Hemmung, Amplitude in Abhängigkeit von der Reizfrequenz) sind durch das Toxin nicht merklich beeinflußt. Ein Befund von Harvey, wonach eine in die motorische Endplatte laufende Nervenerregung dort eine langanhaltende tetanische Entladung auslöst, wird nicht bestätigt. Der Befund ist für das Zustandekommen des lokalen Tetanus nicht wesentlich; er findet sich unter bestimmten Reizbedingungen auch an normalen Muskeln.

4. Sonstige Beobachtungen. Bei Überdosierung auftretender aszendierender Tetanus zeigt in den sekundär befallenen, also nicht gespritzten Gliedern keine Anzeichen von peripherem Sitz; wohl zeigen sich solche gelegentlich bei 4 Wochen alten Vergiftungen, doch ohne bedeutende klinische Symptome. Die reflektorisch bedingten Tonus-Aktionsströme zeigen eigenartige Gruppenbildungen. Auch an Fröschen kann Tetanus ausgelöst werden, und zwar bei 32° C und bei hohen Dosen fast momentan. Diese Starren sind ebenfalls vorwiegend peripher.

5. Schlußfolgerungen. Der lokale Tetanus ist peripher bedingt, teils eine durch reflektorisch-propriozeptive Reize ausgelöste Tonusstarre mit Aktionsstrom (vorwiegend bis zum 5. Vergiftungstag), teils eine rein muskuläre Kontraktur ohne Aktionsstrom (in den späten Stadien vorherrschend). Er ist an die Funktionstüchtigkeit der Endplatte gebunden. Seine Erscheinungen werden am besten durch die Annahme einer allgemein gesteigerten Azetylcholinbildung bzw. eines verminderten Azetylcholinabbaus in den Synapsen verständlich; die Cholinesterase scheint durch das Toxin angegriffen zu sein, doch spielen andere chemische Faktoren noch eine Rolle. Auch der zentrale Tetanus kann als eine Störung des Azetylcholinabbaus betrachtet werden.

Literatur.

1) Abel u. Chalian: Johns Hopkins Hosp. Bull. **62**, 610 (1938). — 2) Abel, Evans, Hampil u. Lee: Ebenda **56**, 84 (1935). — 3) Abel, Firor u. Chalian: Ebenda **63**, 373 (1938). — 4) Abel, Hampil u. Jonas: Ebenda **56**, 317 (1935). — 5) Abel, Hampil, Jonas u. Chalian: Ebenda **62**, 522 (1938). — 6) Aschoff u. Robertson: Med. Klin. **1915**, S. 715. — 7) Bremer: C. r. Soc. Biol. **97**, 1179 (1927); **102**, 332 (1929). — 8) Bremer, Titeca u. van der Meiren: Ebenda **97**, 895 (1927). — 9) Brown: J. Physiol. (Brit.) **89**, 220, 438 (1937). — 10) Brown: Proc. roy. Soc. London, Ser. B: Biol. Sci. **123**, 406 (1937). — 11) Condrea u.

Poenaru: C. r. Soc. Biol. **112**, 1482, 1484 (1933). — 12) Courmont u. Doyon: Le Tétanos. Paris 1899. — 13) Deuticke u. Ebbecke: Hoppe-Seylers Z. **247**, 79 (1937). — 14) Doerr u. Seidenberg: Z. Hyg. **117**, 561 (1936). — 15) Doerr, Seidenberg u. Koppisch: Ebenda **117**, 529 (1936). — 16) Ebbecke u. Hasenbring: Pflügers Arch. **236**, 405 (1935). — 17) Eccles u. O'Connor: J. Physiol. (Brit.) **94**, P. (1938). — 18) Eccles: Erg. Physiol. usw. **38**, 339 (1936). — 19) Eichler: Z. Biol. **99**, 243 (1938). — 20) Eichler u. v. Hattingberg: Dtsch. Z. Nervenhk. **147**, 36 (1938). — 21) Feng: Chin. J. Physiol. **11**, 437 (1937). — 22) Feng: Ebenda **12**, 51 (1937). — 23) Feng u. Shen: Ebenda **11**, 51 (1937). — 24) Feng, Li u. Ting: Ebenda **14**, 329 (1939). — 25) Feng, Li u. Ting: Ebenda, S. 337. — 26) Feng, Li u. Ting: Ebenda, S. 55. — 27) Firor u. Jonas: Johns Hopkins Hosp. Bull. **62**, 91 (1938). — 28) Fröhlich u. Meyer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **79**, 55 (1916). — 29) Göpfert u. Schaefer: Pflügers Arch. **239**, 597 (1937). — 30) Gremels: Erg. Physiol. usw. **42**, 53 (1939). — 31) Gumprecht: Pflügers Arch. **59**, 105 (1895). — 32) Harvey: J. Physiol. (Brit.) **96**, 348 (1939). — 32a) Holzer: Pflügers Arch. **238**, 14 (1936). — 32b) Holzer: Ebenda, S. 1. — 33) Kayser: Z. Biol. **99**, 488 (1939). — 34) Keller: Ebenda **87**, 129 (1927). — 35) Keller: Ebenda, S. 345. — 36) Kuré u. Shinosaki: Z. exper. Med. **44**, 791 (1925). — 37) Liljestrand u. Magnus: Pflügers Arch. **176**, 168 (1919). — 38) Marie u. Morax: Ann. Inst. Pasteur **1897**, S. 591. — 39) Martini, Torda u. Zironi: J. Physiol. (Brit.) **96**, 168 (1939). — 40) Meyer u. Loewi: Naunyn-Schmiedebergs Arch., Suppl. **1908**, S. 355. — 41) Meyer u. Ransom: Ebenda **49**, 369 (1903). — 42) Mies: Pflügers Arch. **214**, 532 (1926). — 43) Mutermilch, Belin u. Salomon: C. r. Soc. Biol. **114**, 1005 (1933). — 44) Ponomareff: Ebenda **97**, 503 (1927). — 45) Ransom: Arch. Neurol. u. Psychiatr. **20**, 663 (1928). — 46) Schaefer: Elektrophysiologie, I. Bd., Wien 1940. — 47) Schaefer: Pflügers Arch. **237**, 329 (1936). — 48) Schaefer: Ebenda, S. 717. — 49) Schaefer: In Vorbereitung. — 50) Schaefer u. Göpfert: Pflügers Arch. **238**, 684 (1937). — 51) Schaefer u. Göpfert: Ebenda **239**, 578 (1937). — 52) Schaefer u. Haass: Ebenda **242**, 364 (1939). — 53) Schaltenbrandt: Dtsch. Z. Nervenhk. **142** (1937); Zbl. inn. Med. **61** (1940). — 54) Semerau u. Weiler: Zbl. Physiol. **33**, 69 (1918). — 55) Stintzing: Mitt. Grenzgeb. Med. u. Chir. **3**, 461 (1898). — 56) Wedensky: Pflügers Arch. **100**, 1 (1903). — 57) Zupnik: Dtsch. med. Wschr. **1905**, S. 1999.

Berichtigung

zur Arbeit A. Lánczos: „Trennung von Azethylcholin und Kalium in Flüssigkeiten und Gewebsauszügen" [Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 322 (1940), Heft 3].

In der Legende zu Abb. 5 soll es heißen: *a* = Wirkung von 1 g Gehirnextrakt nach Permutitbehandlung. *b* = Wirkung von 1 g Gehirnextrakt vor Permutitbehandlung.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Pécs, Ungarn.

Tätigkeitssteigerung der Schilddrüse durch thyreotropes Hormon beim metamorphosierten Kaltblüter.

Von

Anna Lánczos und **Maria Áts.**

Mit 3 Textabbildungen (6 Einzelbildern).

(Eingegangen am 1. November 1940.)

Während in zahlreichen Arbeiten eine entwicklungsbeschleunigende und stoffwechselsteigernde Wirkung der Schilddrüse auf die neotenische Form des Kaltblüters eindeutig gezeigt werden konnte[1], blieben die Bemühungen verschiedener Autoren[2], Schilddrüsenwirkungen beim voll entwickelten Kaltblüter nachzuweisen, erfolglos, was zur Annahme führte, daß die Schilddrüse bei diesem Tier nur bis zum Abschluß der Metamorphose tätig und ihr Sekret nur bis zu diesem Zeitpunkt wirksam ist.

Die Feststellung, wonach ein beim Warmblüter wichtiges und vielseitig tätiges Organ beim entwickelten Kaltblüter völlig funktionslos, also überflüssig sein sollte, dürfte von prinzipieller Bedeutung sein und so gründeten einzelne Autoren[3] hierauf die Hypothese, daß die Schilddrüse ihre Wirkung über das Wärmezentrum entfaltet. Beim Einstellen der Schilddrüsenfunktion nach der Metamorphose wäre aber zu erwarten, daß an der Drüse auch morphologische Zeichen einer Rückbildung auftreten. Dies ist jedoch nicht der Fall und es konnten vielmehr seitens mehrerer Zoologen jahrescyclische Änderungen im histologischen Bau der Schilddrüse nachgewiesen werden, die bei der Annahme eines Fehlens der Tätigkeit unverständlich wären.

So konnte Sklower[4] in einer ausführlichen Arbeit, in welcher er das inkretorische System im Lebenscyclus der Frösche vom Neurulastadium ab durch die Metamorphose und Reifephase bis zur Zeit der regressiven Altersveränderungen untersucht hatte, zeigen, daß die Schilddrüse und Hypophyse, also gerade die Organe, die beim Warmblüter im Zustande-

[1] Literatur bei P. Trendelenburg: Die Hormone. Bd. II, S. 91ff. Berlin, Jul. Springer, 1934; Rein, M.: Die Hormonforschung, S. 18. Berlin u. Wien, Urban u. Schwarzenberg, 1934. — [2] Abderhalden, E., u. E. Wertheimer: Pflügers Arch. **219**, 588 (1928); Henschel, H., u. M. Steuber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 401 (1931); Drexler, E., u. B. v. Issekutz, jun.: Ebenda **177**, 435 (1935). — [3] Issekutz, B. v., u. B. v. Issekutz, jun.: Ebenda **177**, 442 (1935). — [4] Sklower, A.: Z. vergl. Physiol. **2**, 474 (1925).

kommen des Winterschlafes eine Rolle spielen, saisonmäßige Veränderungen ihres histologischen Bildes zeigen, die zur Zeit der Winterruhe einer Ruhigstellung, im Sommer einer größeren Aktivität der Drüse entsprechen. Ähnliche Befunde über jahrescyclische Änderungen der Schilddrüse beim entwickelten Kaltblüter, nämlich eine höhere Aktivität im Frühjahr als im Winter, haben auch Weigmann[5], Eggert[6] und Meisenheimer[7] beschrieben.

Alle diese Ergebnisse sind kaum mit einer Funktionslosigkeit der Schilddrüse des differenzierten Kaltblüters zu vereinbaren und so mußte angenommen werden, daß auch bei diesem Tier Schilddrüsenwirkungen nachweisbar sein dürften.

Nach den Befunden von Mansfeld und Mitarbeitern[8] übt die Schilddrüse sowie ihr Sekret ihre Wirkung primär auf die Eiweißspaltungen aus und so war es zu erwarten, daß auch beim Kaltblüter sich ehestens eine Beeinflussung des N-Stoffwechsels nachweisen läßt. Tatsächlich konnte von Mansfeld und der einen von uns[9] gezeigt werden, daß sich beim Frosch durch Thyroxin eine Steigerung des Eiweißumsatzes herbeiführen läßt und ähnliches konnte auch vom thyreotropem Hormon festgestellt werden[10]. In diesen beiden letzteren Arbeiten haben wir auch weitere Literaturangaben diskutiert, die gegen eine Funktionslosigkeit der Kaltblüterschilddrüse sprechen.

Nachdem sich so eine Wirkung des Schilddrüsensekrets beim metamorphosierten Kaltblüter bzw. eine Anregung der Tätigkeit dieser Drüse durch thyreotropes Hormon nachweisen ließ, schien es von Interesse, zu prüfen, ob die Ansprechbarkeit dieses Organs auf Hypophysenvorderlappensubstanz sich auch histologisch kundgibt.

Das thyreotrope Hormon der Hypophyse ruft bekanntlich beim Warmblüter Gewebsveränderungen der Schilddrüse hervor, die so regelmäßig auftreten und derart charakteristisch sind, daß sie zur quantitativen Auswertung der thyreotropen Wirksubstanz verwendet werden können[11]. Ließen sich beim Kaltblüter ähnliche Veränderungen hervorrufen, so wäre dies ein neuerer Beweis dafür, daß sich seine Schilddrüse auch nach der Metamorphose von jener des Warmblüters funktionell nicht unterscheidet. Über unsere Versuche, die die aufgeworfene Frage im positiven Sinne beantworten, soll im folgenden berichtet werden.

[5] Weigmann, R.: Z. Zool. **142**, 491 (1932). — [6] Eggert, B.: Ebenda **147**, 205 (1935). — [7] Meisenheimer, M.: Ebenda **148**, 261 (1936); 5, 6, 7 angef. n. B. Eggert: Morphologie u. Histophysiologie d. norm. Schilddrüse, S. 72. Leipzig, Johann Ambrosius Barth, 1938; hier auch weitere Literatur. — [8] Mansfeld, G.: Klin. Wschr. **14**, 884 (1935); Mansfeld, G., u. G. Horváth: Pflügers Arch. **235**, 520 (1935). — [9] Mansfeld, G., u. A. Lánczos: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 267 (1936). — [10] Lánczos, A.: Ebenda **191**, 430 (1939). — [11] Junkmann, K., u. W. Schoeller: Klin. Wschr. **1932**, II, 1176; Zusammenfassende Literatur bei A. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 23 (1937).

Versuche und Versuchsergebnisse.

Die Versuche führten wir im April—Juli 1940 an voll entwickelten Wasserfröschen (Rana esculenta) aus, welchen wir das thyreotrope Hormon in den Bauch- oder Rückenlymphsack einspritzten. Wir benutzten als thyreotropes Hormon Pretiron, das uns von der Schering A.-G. Berlin in freundlicher Weise kostenlos überlassen wurde, wofür wir auch an dieser Stelle bestens danken. In einigen Versuchen verwendeten wir auch ein älteres Präparat, das von der Schering A.-G. vor mehreren Jahren hergestellt und seit der Lieferung im elektrischen Kühlschrank aufbewahrt wurde und

Abb. 1. a = Schnitt durch die Schilddrüse eines entwickelten Frosches im Winter. b = Schnitt durch die Schilddrüse eines entwickelten Frosches im Sommer. *f. e.* = Follikelepithel, *k.* = Kolloid. Vergrößerung etwa 120fach. Nach Sklower.

es ist bemerkenswert, daß auch dieses voll wirksam war. Wir gaben den Tieren im allgemeinen täglich fünf Meerschweincheneinheiten, in einigen Versuchen täglich 25 Meerschweincheneinheiten thyreotropes Hormon und prüften die Schilddrüse nach 2—18 Injektionen histologisch, wobei die Schnitte mit der üblichen Hämatoxylin-Eosinlösung gefärbt wurden.

Bevor wir die histologische Wirkung des thyreotropen Hormons beschreiben, soll zunächst auf das Bild der normalen Kaltblüterschilddrüse näher eingegangen werden. Wie bereits in der eingangs erwähnten Arbeit von Sklower[4] festgestellt wurde, unterscheidet sich die Winterschilddrüse

des Frosches von der sommerlichen, und zwar findet man im Winter Zeichen einer geringeren Aktivität, nämlich Kolloidstauung und Abflachung des Follikelepithels.

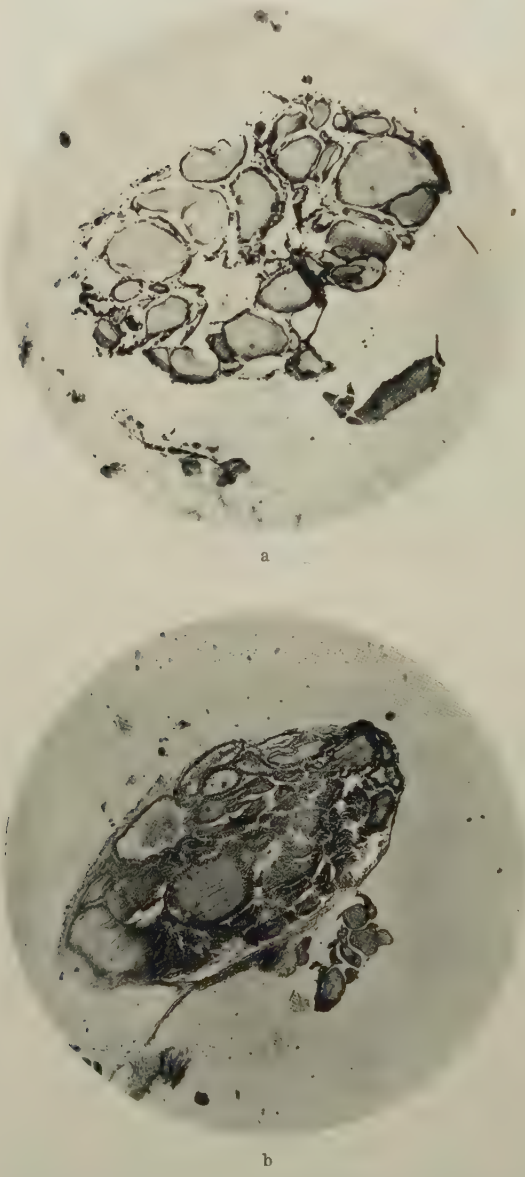


Abb. 2. a = Schilddrüse eines unbehandelten entwickelten Wasserfrosches im Sommer. b = Schilddrüse eines entwickelten Wasserfrosches im Sommer nach 8tägiger Behandlung mit thyreotropem Hormon. Vergrößerung etwa 50fach.

Dieses Verhalten geht aus den Abb. 1a und 1b hervor, die wir der Arbeit von Sklower[4] entnehmen. Abb. 1a zeigt das Bild der Winterschilddrüse eines Grasfrosches (Rana temporaria). Die Follikel sind rundlich und enthalten reichlich Kolloid. Im Sommer wird das gestaute Kolloid in die Blutbahn abgegeben und dementsprechend ist in den Drüsenbläschen weniger Kolloid enthalten. Im übrigen zeigt auch die Sommerschilddrüse des Frosches, wie aus der Abb. 1b hervorgeht, das Bild einer mäßigen Aktivität.

Die Abb. 2a und 3a zeigen das Bild der Schilddrüse unbehandelter Frösche aus unseren Versuchen. Die Follikel sind mit Kolloid gefüllt und mit einer Epithelschicht von flachen Zellen gefüttert.

Nach Zufuhr von Hypophysensubstanz ändert sich nun dieses Bild der Schilddrüse und es zeigen sich Zeichen einer Aktivierung, die mit der Zufuhr des Hormons fortlaufend zunimmt. Die Aktivierung der Schilddrüse erfolgt beim Kaltblüter langsamer als beim Warmblüter, aber

nach längerer Hormonzufuhr finden wir auch bei diesem Tier ein Drüsenbild von einer Aktivität, die sich von jener der Warmblüterschilddrüse nach Hypophysenvorderlappeneinwirkung nicht unterscheidet.

Bereits nach zweitägiger Hormonzufuhr sind Veränderungen an der Drüse wahrzunehmen. es erscheinen reichlich Zellen in der Mitte des Kolloids. Nach sechs- bis achttägiger Zufuhr sind die Veränderungen — wie Abb. 2b zeigt — ausgeprägt, das Kolloid erscheint in einzelnen Follikeln vom Rand aus angedaut, in anderen ist es bereits verschwunden und der Follikelzellbelag ist höher geworden. Diese Veränderungen nehmen mit weiterer Hormonzufuhr fortschreitend zu und nach 14—18tägiger Gabe des Hormons finden wir die Schilddrüse in ein Gewebe verwandelt, das an die Struktur der Basedowstruma erinnert.

Abb. 3b zeigt die Schilddrüse eines solchen Frosches, der 15 Tage lang mit täglich 5 Meerschweincheneinheiten thyreotropem Hormon behandelt wurde. Die Drüsenbläschen sind unregelmäßig geworden und enthalten kein Kolloid. Das Drüsenepithel ist nicht mehr flach, sondern kubisch und stellenweise zylin-

a

b

Abb. 3. a = Schilddrüse eines unbehandelten entwickelten Wasserfrosches im Sommer. b = Schilddrüse eines entwickelten Wasserfrosches im Sommer nach 15tägiger Behandlung mit thyreotropem Hormon. Vergrößerung etwa 160fach.

drisch. Mit Immersionslinsenvergrößerung ist eine Auflockerung des Chromatingerüstes der Zellkerne zu sehen. Die Zellen ordnen sich in vielen Follikeln in mehreren Schichten an, so daß die Bläschen hier vollständig mit Zellsträngen gefüllt sind und kaum mehr an die normale Schilddrüsenstruktur erinnern.

Die Schilddrüse schien bei einigen Tieren, aber durchaus nicht bei allen, nach der Hormonzufuhr vergrößert.

Bei Zufuhr der großen Hormondosen von täglich 25 Meerschweinchen-einheiten konnten wir auch nach 6—8 Tagen das Entstehen der geschilderten Gewebsveränderungen nicht beobachten, das Bild unterschied sich vielmehr nicht von jenem der unbehandelten Drüse. Es scheint, daß bei fortgesetzter Verabreichung dieser großen Gaben eine hemmende Wirkung des thyreotropen Hormons in Erscheinung tritt, die auch bei Stoffwechselwirkungen des Hormons von Rothschild und Staub[12] und auch in unserer angeführten Arbeit[10] beobachtet werden konnte.

Es gelang uns also durch Einführung von thyreotropem Hormon an der Kaltblüterschilddrüse eine histologisch nachweisbare Aktivierung hervorzurufen, die sich von jener der Warmblüterschilddrüse unter ähnlichen Umständen in nichts unterscheidet. Zwischen Strukturbild und Funktion eines Organs besteht aber ein Parallelismus, der ja eben die Grundlage dafür bildet, daß der morphologischen Forschung eine bedeutsame Rolle in der Biologie eingeräumt werden mußte.

Daß nach Zufuhr von Hypophysenvorderlappen dem Bild der erhöhten Schilddrüsenaktivität tatsächlich eine Funktionssteigerung entspricht, wurde mehrfach erwiesen. So konnten Schittenhelm und Eisler[13] durch Nachweis einer Steigerung der Acetonitrilresistenz, ferner des Sauerstoffverbrauchs und der Empfindlichkeit gegen Sauerstoffmangel, sowie eines Ausbleibens des Temperatursturzes nach Novocain und schließlich einer Herabsetzung des Schilddrüsen- und Erhöhung des Blutjodgehalts zeigen, daß die histologischen Schilddrüsenveränderungen mit einer Erhöhung der Drüsenfunktion Hand in Hand gehen. Grab[14] fand ebenfalls, daß gleichzeitig mit den histologischen Veränderungen durch thyreotropes Hormon eine Steigerung der Acetonitrilresistenz sowie Verminderung des Schilddrüsen- und Vermehrung des Blutjodgehalts als Zeichen erhöhter Drüsentätigkeit erfolgt.

So dürfen wir annehmen, daß auch beim entwickelten Kaltblüter mit den histologischen Veränderungen nach thyreotropem Hormon eine Steigerung der Schilddrüsenfunktion Hand in Hand geht, diese Steigerungsfähigkeit der Funktion setzt aber auch das Vorhandensein einer Tätigkeit der Kaltblüterschilddrüse unter physiologischen Umständen voraus, für

[12] Rothschild, F., u. H. Staub: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 189 (1935). — [13] Schittenhelm, A., u. B. Eisler: Klin. Wschr. **1932**, I, 1092. — [14] Grab, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 103 (1932).

welche unsere Versuche somit — in Ergänzung unserer eingangs erwähnten Mitteilungen — einen weiteren Beweis geliefert haben.

Daß das aus der Warmblüterhypophyse gewonnene thyreotrope Hormon an der Kaltblüterschilddrüse die gleichen Veränderungen wie beim Warmblüter hervorrufen kann, spricht dafür, daß beide auf denselben Wirkstoff ansprechen und es demgemäß in Übereinstimmung mit den kürzlich erschienenen Ausführungen von Bomskov und Sladović[15] wohl überflüssig ist, ein besonderes auf den Kaltblüterorganismus wirksames thyreotropes Hormon anzunehmen.

Zusammenfassung.

Die Schilddrüse des vollentwickelten Kaltblüters kann durch thyreotropes Hormon aktiviert werden, was sich histologisch in Kolloidschwund sowie in einem Kubisch- bis Zylindrisch- und Mehrschichtigwerden des Bläschenepithels äußert und mit den Veränderungen der Warmblüterschilddrüse unter ähnlichen Umständen identisch ist. Auf Grund des vielfach erwiesenen Parallelismus zwischen Morphologie und Funktion muß dieser Befund so gedeutet werden, daß die Kaltblüterschilddrüse auch nach der Metamorphose zur Steigerung ihrer Funktion fähig ist bzw. auch zu dieser Zeit eine Tätigkeit ausübt.

[15] Bomskov, Chr., u. L. Sladović: Klin. Wschr. **1940**, I, 612.

Aus der Universitätsfrauenklinik der Seestadt Rostock.
(Direktor: Prof. Dr. G. Haselhorst)
und dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. S. Janssen).

Zur Methodik der Lungenembolieforschung.

Von
Dr. **W. Hachmeister,** Assistent der Klinik.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Oktober 1940.)

Die pathologische Physiologie der tödlichen und nichttödlichen Lungenembolie beim Menschen ist heute keineswegs als einheitlich geklärt zu betrachten. Da einwandfreie Kreislaufbeobachtungen dieses pathologischen Geschehens an Patienten selten angestellt werden können, hat man versucht, Tierexperimente zur Lösung der physiologischen Fragen heranzuziehen. Diese Tierversuche wurden zunächst mit Methoden ausgeführt, die unbefriedigend waren, da die Versuchsbedingungen nicht den natürlichen Vorgängen bei menschlichen Lungenembolien entsprachen. Hierher gehören Versuche mit kleinen Getreidekörnern, Quecksilber, Wismutöl, Bakterienaufschwemmungen u. a. suspendierten Massen.

Einwandfreiere Resultate konnten dann in den letzten Jahren mit der Bariumsulfatstäbchen-Methode nach Martin erzielt werden. Besonders was den Marschvorgang anbelangt, wurden durch diese Untersuchungen wertvolle Ergebnisse erzielt. Nägeli und Janker zeigten auf kinematographischem Wege vor dem Röntgenschirm den genauen Ablauf der Lungenembolie. Zwecks Beeinflussung des Marschvorgangs wurde mit Novokain eine Phrenikuslähmung herbeigeführt, um den bewegungsfördernden Einfluß des Zwerchfells zu unterbinden. Die Resultate ergaben kein einheitliches Bild. Es war jedoch möglich, unter Überdruckatmung die Bewegung der Emboli am Zwerchfell zu hemmen.

Auch von mir wurden die ersten Untersuchungen über experimentelle Lungenembolie an Tieren mit den röntgenkontrastgebenden Bariumsulfatstäbchen durchgeführt, jedoch zwangen folgende Gründe und Beobachtungen dazu, diese Methode wieder zu verlassen.

1. Handelt es sich bei den Bariumsulfatstäbchen um eine so starre Masse der einzelnen Emboli, wie sie niemals bei einer natürlichen Blutembolie vorkommt, es haben deswegen Nägeli und Janker später bereits Stäbchen von weicherer Konsistenz verwendet.

2. Erschienen die Bariumsulfatstäbchen mit Liquor ferri sesquichlorati chemisch nicht indifferent genug, und

3. führten Embolien mit Suspensionen zur Verstopfung der Coronarvenen im rechten Herzen, wie wir es bei Bariumsulfatbrei und auch bei Luftembolien beobachteten.

Schon beim zweiten Versuchstier erhoben wir post mortem einen Befund, bei dem die Mängel dieser Methode klar zutage traten. In den Verästelungen der arteria pulmonalis hatten sich drei starre Bariumsulfatstäbchen übereinandergesetzt, und zwar so, daß das unterste zwar zum größten Teil der Gefäßwand anlag, die beiden obersten jedoch dem Blut die Möglichkeit ließen, an ihnen vorbeizuströmen. Das umliegende Gewebe der beiden obersten Stäbchen konnte also völlig normal durchblutet werden.

Die eigentliche Frage in der Lungenembolieforschung ist ja, woran eigentlich die Menschen mit schwerer Lungenembolie sterben. Sauerbruch u. a. nehmen an, daß es sich um einen Reflextod handelt. Ein solcher Reflex kann, wenn überhaupt, nur von den Gefäßwänden der Lungenarterien ausgelöst werden. Ein Urteil über die Auslösung von quantitativen Gefäßwandreflexen läßt sich aber bei künstlichen Lungenembolien nicht fällen, wenn starre Stäbchen als Embolimasse verwendet werden. Auch wird der Grad der Zirkulationsstörung bei starren Emboli niemals so hoch sein wie bei einem natürlichen Embolus, der ja in fast allen Fällen das ganze Gefäßlumen verstopft.

Um diese unnatürlichen Verhältnisse der früheren Methoden im Tierexperiment auszuschalten, erhoben wir folgende Forderung:

1. Die Emboli müssen in ihrer Konsistenz den natürlichen gleich sein.
2. Die Masse der Emboli darf nicht körperfremd sein.
3. Die Bahn für die Emboli muß die gleiche sein, wie bei menschlichen Embolien.
4. Die Emboli müssen in ihrem Durchmesser den Durchmesser der Coronarvenen übertreffen. Diese letzte Forderung ist deshalb so wichtig, weil bei Verstopfung der Coronarvenen eine hochgradige Minderdurchblutung des Herzmuskels eintritt, die irreversible Folgen trägt.

Selbst dann, wenn die eigentliche Lungenembolie von dem Tier überstanden würde, d. h. wenn also der arterielle Blutdruck wieder größer würde als der venöse, werden die Pfröpfe nur in den seltensten Fällen wieder in das rechte Herz zurückgepreßt. Über das Auftreten von Herzmuskelnekrosen, wie sie von Büchner bei experimentellen Lungenembolien an Kaninchen beobachtet worden sind, läßt sich daher mit den früheren Methoden ein eindeutiges Urteil nicht fällen.

Eigene Methodik.

1. Herstellung der Emboli.

Von dem zum Embolieversuch bestimmten Tier werden etwa 24 Stunden vor dem eigentlichen Versuch je nach Größe des Tieres eine bestimmte

Menge Blut aus einer Vene entnommen und in eine unten verschlossene Glasröhre von ganz bestimmtem Durchmesser gespritzt (s. Abb. 1 a). Die Glasröhren werden vorher mit physiologischer Kochsalzlösung durchspült. Die so mit Blut angefüllten Röhren bleiben bis zum nächsten Tag senkrecht stehen. Das Serum setzt sich ab und um die Achse der Röhre bildet sich dann ein Koagulationsthrombus. Nach 24 Stunden läßt man den Thrombus heraus und schneidet nun je nach Größe und Gewicht des Versuchstieres entsprechend lange Stücke der thrombosierten Masse ab.

Für Hunde von etwa 10 kg benutzten wir Glasröhren mit einem inneren Durchmesser von 6,5 mm und einer Länge von etwa 30 cm. Für

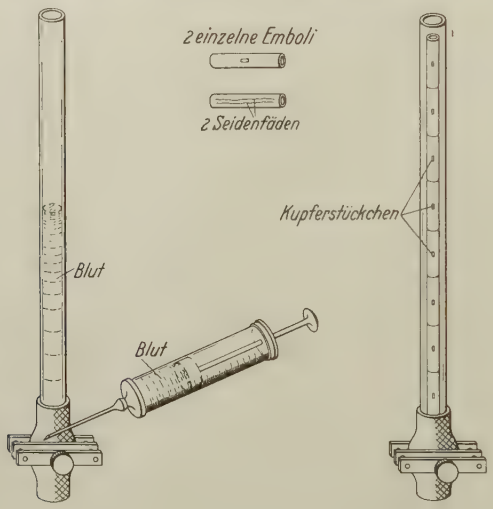


Abb. 1 a. Eine Glasröhre wird mit Blut gefüllt.
„ 1 b. Mit 8 Emboli gefüllte Embolieröhre.

Katzen von etwa 3,5 kg erwiesen sich Glasröhren von 4 mm Innendurchmesser als am praktischsten. Die Maße der eigentlichen Einzelemboli betrugen dann für Hunde: Länge 2,3 cm, Dicke 4,5 mm. Für Katzen: Länge 1 cm, Dicke 3 mm.

Die Emboli können steril hergestellt werden. Um sie röntgenologisch in der Lunge sichtbar zu machen, wurden in die einzelnen Emboli kleine Kupferdrähtchen gesteckt, und zwar so, daß sie längs, und zwar genau in der Achse lagen (s. Abb. 1 b). Die Länge der Kupferdrähtchen betrug für Hunde etwa 2,5 mm. Sie darf nicht größer sein als der Innendurchmesser der Metallkanüle beträgt. Will man nun bei der Sektion die Emboli der Reihe nach wiederfinden, so genügt es, mit einer Nähnadel einen oder mehrere kleine Seidenfäden — eventuell farbige — in die Emboli hineinzuziehen. Auf diese Weise läßt sich bei der Sektion feststellen, wohin der erste, zweite usw. Embolus gegangen ist.

Die angegebene Länge der Emboli wurde deshalb gewählt, weil kürzere oder längere sich leicht im Herzen verfangen oder liegenbleiben, sich aufrollen oder zu reitenden Emboli an den Teilungsstellen der Arteria pulmonalis wurden. Abb. 2 zeigt einen histologischen Schnitt durch eine Lungenpartie, in der en Arterie sich ein Blutembolus befindet. Der Unterschied zwischen der Stäbchenmethode und der natürlichen Blutembolie-methode tritt am deutlichsten hervor, wenn man die Lungen schneidet. Die Blutemboli quellen förmlich aus der Arterie heraus, während das Bariumsulfatstäbchen — besonders wenn mehrere übereinanderliegen — nicht festliegt, sondern sich hin und her bewegen läßt.

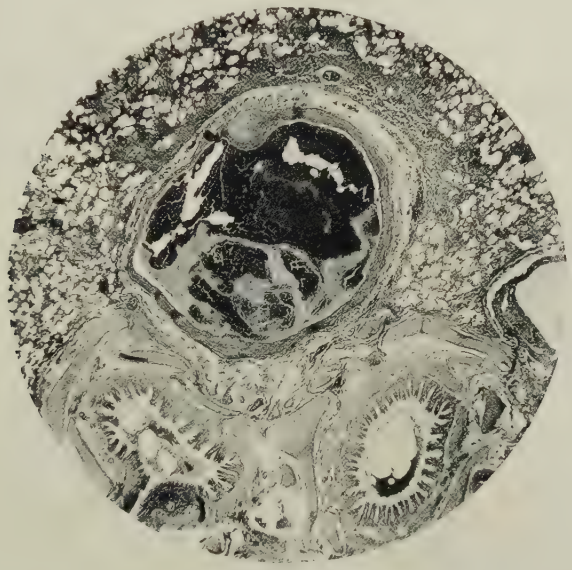


Abb. 2. Blutembolus in einer Lungenarterie, deren ganzes Lumen durch den Embolus ausgefüllt ist.

Die Vorbedingungen für naturgetreue Nachahmung der menschlichen Lungenembolie sind hiermit, was Stoff, Konsistenz und Durchmesser der Emboli anbelangt, erfüllt.

Wir glauben noch erwähnen zu müssen, daß auch die Versuche, Emboli von einer Vene der oberen Körperhälfte aus in die Arteria pulmonalis zu schicken, nicht zu einheitlichen Resultaten führten. Es dauerte bisweilen minutenlang, ehe der Embolus in der Lunge ankam, wenn wir von der Vena jugularis ausgingen. Eine derartige Verzögerung erlebten wir jedoch nie beim Injizieren der Emboli von der Vena femoralis aus. Alle unsere Versuche wurden daher 1. mit Blutemboli, 2. von der rechten Femoralvene aus durchgeführt.

2. Injektion der Emboli.

Der Vorgang der Injektion gestaltet sich nun folgendermaßen.

In Narkose wird dem Versuchstier eine möglichst dicke aber dünnwandige Metallkanüle oder auch Glaskanüle in die Vena femoralis eingebunden. An dieser Gefäßkanüle befindet sich peripherwärts ein Gummischlauchstückchen, welches, nachdem die Kanüle mit Kochsalzlösung gefüllt und in die Vene eingebunden ist, vermittelst einer Klemme abgeklemmt wird. Jetzt wird die Embolieröhre schußfertig gemacht.

Hierzu nimmt man eine der Glasröhren, welche schon zur Herstellung der langen Emboli dienten und füllt sie mit Kochsalzlösung. Unten bildet ein Stück Gummischlauch (abgeklemmt) den Abschluß. Nun werden mit

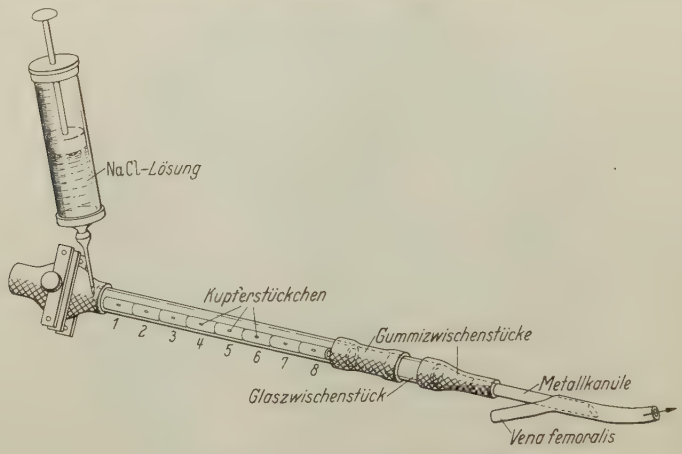


Abb. 3. Angeschlossene Embolieröhre mit 8 Emboli gefüllt.

einer anatomischen Pinzette die einzelnen Emboli gefaßt und in die senkrecht stehende Glasröhre versenkt. Da die Emboli schwerer sind, sinken sie in der Kochsalzlösung nach unten.

Auf diese Weise kann man eine ganz bestimmte Anzahl von Emboli von gewünschter Länge und Dicke in die Embolieröhre einfüllen (s. Abb. 1b).

Zum Schluß wird auch oben die Röhre durch ein abgeklemmtes Gummischlauchstück abgeschlossen, so daß die fertige Embolieröhre an beiden Seiten durch Klemmen verschlossen ist. Zum Ansetzen der Embolieröhre an die bereits eingebundene Metallkanüle wird eins von den beiden Gummischlauchstücken entfernt und die Röhre dem Gummischlauchstück der Metallkanüle angeschlossen. Die Embolieröhre wird sodann in fast gleicher Richtung wie die Femoralvene durch Metallklemmen mit innerem Korkbelag befestigt.

Bevor wir zur eigentlichen Injektion schreiten, müssen natürlich sämtliche Meßinstrumente an dem Versuchstier angebracht sein. Zeigt dann das Tier ruhige regelmäßige Atmung, regelmäßigen Puls und kon-

stanten Blutdruck, so kann mit der Injektion begonnen werden. Es ist besonders zu beachten, daß das Versuchstier in eine konstante Wärmeumgebung gebracht wird, da sonst schockartige Zustände oft nicht vermieden werden können.

Um nach diesen Vorbereitungen die Emboli in die Blutbahn zu treiben, wird zunächst eine bestimmte Menge Kochsalzlösung durch das Gummischlauchstück an der Metallkanüle injiziert, um zu zeigen, daß NaCl-Injektionen (körperwarm) keine Ausschläge an den Meßapparaten hervorrufen. Sodann beginnt nach kurzer Pause die Injektion.

Um die Emboli in die Blutbahn zu jagen, werden einige ccm körperwarmer Kochsalzlösung mit einer Rekordspritze in das Gummiröhrchen oberhalb der Emboli eingespritzt, und zwar solange, bis der letzte Embolus in der Vene verschwunden ist, was man oft durch ein wesentliches Nachlassen des Spritzendruckes bemerkt (s. Abb. 3). Nach diesem Nachlassen des Druckes werden noch weitere 2—3 ccm Kochsalzlösung hinterhergespritzt, um die Emboli sicher in der Vena cava zu wissen.

Nach einer bestimmten Anzahl von Sekunden treten sodann die ersten Erscheinungen der Lungenembolie auf.

Handelt es sich um eine nichttödliche Embolie, so kann die Kanüle wieder entfernt und die Haut durch Catgut vernäht werden. Die Versuchstiere erholen sich und können (falls aseptisch gearbeitet wurde) in 3 Wochen wieder zu Versuchen benutzt werden. Um einwandfreie Resultate zu bekommen, ist es wichtig, möglichst gleichaltrige und gleichgroße Tiere zu benutzen.

Mit dieser Methode haben wir nun an Hunden und Katzen zahlreiche Versuche durchgeführt, von denen wir einen als Beispiel anführen.

Der arterielle Blutdruck wurde an der linken Arteria femoralis, der venöse an der linken Jugularvene gemessen. Die Emboli wurden in die rechte Femoralvene injiziert. Zur Messung des arteriellen Blutdruckes benutzten wir ein Quecksilber-Gegenstrommanometer nach Trendelenburg, zur Messung des venösen Blutdruckes ein Wassermanometer.

Tierversuch. Hund 6. Gewicht: 16 kg, Narkose: Chloralose. Messung des arteriellen und venösen Blutdruckes.

1. Embolie: Injektion von 12 Einzelemboli (Länge 2,3 cm, Dicke 4,5 mm).
Erfolg: Der arterielle Blutdruck sinkt nach 15—20 Sekunden von 120 auf 84 mm Hg ab und ist nach 90 Sekunden wieder normal. Der venöse Blutdruck steigt nach 20 Sekunden von + 5 auf + 60 mm H_2O an und ist nach 4 Minuten wieder normal.
2. Embolie: Nach einer Pause von 5 Minuten wieder Injektion von 13 Einzelemboli.
Erfolg: Der arterielle Blutdruck sinkt nach 15 Sekunden ab und ist nach 30 Sekunden auf 40 mm Hg abgefallen. Der venöse Blutdruck steigt nach 15 Sekunden wieder auf über 200 mm H_2O an. Exitus des Hundes nach 3 Minuten.

Wie der Versuch zeigt, ist es möglich, sowohl die Erscheinungen einer nichttödlichen als auch einer tödlichen Lungenembolie genauestens zu beobachten. Auch das Sektionsmaterial kann voll ausgewertet werden, da es ohne Schwierigkeiten gelingt, histologische Schnitte von den betroffenen Lungenpartien anzufertigen.

Die Anwendung der bisherigen Methoden der tierexperimentellen Lungenembolieforschung hat sicherlich manche Fragen gelöst, jedoch konnte von kritischen Beobachtern immer wieder der Einwand gemacht werden, daß mit solchen Methoden die Tierexperimente doch unter wesentlich anderen Voraussetzungen durchgeführt werden mußten, als dies bei der menschlichen Lungenembolie der Fall ist.

Mit völlig gleichen Verhältnissen wird man im Tierexperiment nie arbeiten können, dazu sind die Unterschiede zwischen Mensch und Tier in biologischer Beziehung zu groß. Was gefordert werden muß, ist aber die bestmöglichste Angleichung der Verhältnisse im Tierexperiment an den pathologischen Vorgang beim Menschen.

Zusammenfassung.

Es wurde eine neue Methodik der Lungenembolieforschung ausgearbeitet, welche sich den natürlichen Verhältnissen beim Menschen weitgehendst anpaßt und Mängel anderer Methoden ausschaltet. Die Methode gestattet ferner einwandfreie Beobachtungen im Tierexperiment und ermöglicht es, schon vor dem Versuch genauestens festzulegen, ob es sich um eine tödliche oder nichttödliche Lungenembolie handeln soll. Da die Emboli in ihrer Zusammensetzung den natürlichen gleichen, können auch die histologischen Sektionsbefunde vollstens ausgewertet werden.

Die Versuche wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft ausgeführt.

Literatur.

Aschhoff: Thrombose und Embolie, Verh. dtsch. Kreislaufforsch. 1934. — Bethe-Bergmann: Hdb. norm. u. path. Physiol. **2** (1925). — Büchner: Die Coronarinsuffizienz, Kreislf. Bücherei, Bd. 3. Dresden, Steinkopfverlag, 1939. Frey: Die Embolie. Thieme-Verlag, 1933. — Geissendörfer: Thrombose und Embolie. Leipzig, Verlag Barth, 1935. — Haselhorst: Arch. Gyn. **122** (1924). — Hochrein u. Schneyer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 265 (1937). — Janssen: Die pharmakologische Beeinflussung von Atmung und Kreislauf. Nauheimer Fortbildg.-Lehrgänge **11** (1935). — Lichtheim: Störungen des Lungenkreislaufs und ihr Einfluß auf den Blutdruck. Breslau 1876. — Martin: Arch. klin. Chir. S. 155 (1929). — Nägeli u. Janker: Dtsch. Z. Chir. S. 235 (1932). — Sauerbruch: Chirurgie der Brustorgane. Berlin, Jul. Springer, 1925. — Straub: Schweratmigkeit bei Störungen des Lungenkreislaufs. Nauheimer Fortbildg.-Lehrgänge **11** (1935).

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck.

Die Wirkung von Oxydantien auf das Froschherz.*

II. Mitteilung:

Von

H. Richter.

Mit 3 Textabbildungen (5 Einzelbildern).

(Eingegangen am 1. Dezember 1940.)

In der ersten Mitteilung [1] wurde berichtet, daß Oxydantien ($KMnO_4$, Benzoesäureperoxyd, Chinon) auf das Froschherz einen tonisierenden Einfluß haben. Die Arbeit beschäftigte sich in erster Linie mit dem Einfluß dieser Stoffe auf die Dynamik des Froschherzens in der Frankschen Anordnung. Die vorliegende Mitteilung befaßt sich eingehender mit der Wirkung der Oxydantien auf das nach Straub isolierte Froschherz; einmal weil diese meines Wissens noch nicht genauer untersucht wurde und zum anderen, weil die intermediäre Bildung von Peroxyden für viele biologische Vorgänge von Bedeutung ist. Die Pharmakologie der Oxydationsmittel wurde, von der Desinfektionswirkung [2] abgesehen, überhaupt nur wenig untersucht. Cushny [3] verglich die oxydative Kraft verschiedener Oxydantien hinsichtlich der Methämoglobinbildung, der Hämolyse und der Überlebenszeit des Nerv-Muskelpräparates vom Frosch. Loewe und seine Mitarbeiter [4] beschäftigten sich mit der resorptiven Wirkung der Oxydantien (Lungenödem, Aortenveränderungen) und teilten Modellversuche ihre örtliche Wirkung betreffend mit.

Bei der Auswahl der zu prüfenden Oxydantien legte ich Wert darauf, Stoffe zu vergleichen, die in ihrer chemischen Zusammensetzung und in ihren Reduktionsprodukten möglichst verschieden sind.

Von den untersuchten Substanzen ist von ihren Wirkungen auf überlebende Organe folgendes bekannt:

$KMnO_4$. De Jongh [5] gibt an, daß $KMnO_4$ glatte Muskeln zur Kontraktion bringt und das Straub-Herz unter Verkleinerung der Ausschläge schädigt. Von Herzwirkung bei Vergiftungsfällen hören wir durch Thomson, Box, Cohn [6], doch wird hierbei das Kalium für die Wirkung verantwortlich gemacht.

---

* Eingereicht zur Erlangung des Grades eines Dr. med. habil. in der medizinischen Fakultät der Universität Innsbruck.

[1] Richter, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 362 (1940). — [2] Reichel, H.: Medizinische Kolloidlehre, S. 764. Leipzig, Steinkopff, 1935. — [3] Cushny, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch., Suppl.-Bd. 1908, S. 126. — [4] Loewe: Schrifttum bei Jürgens, R.: Z. exper. Med. **25**, 123 (1921). — [5] De Jongh, S. E.: Arch. internat. Pharmacodynam. **46**, 239 (1933). — [6] Thomson, Box, Cohn: zit. nach Langecker, H.: Heffters Handb. III, 2, S. 1394.

H_2O_2. J. Mita [7] untersuchte die Wirkung der Ätheroxydationsprodukte auf das Froschherz. Hierbei beobachtet er, daß H_2O_2 am isolierten Herzen bis zu einer Konzentration von 3% die Diastole nicht beeinflußt, oberhalb dieser Konzentration jedoch Kontrakturen mit Bleichung und Gewebszerstörung hervorruft. Fieger [8] sah irreversible Kontrakturen der Gefäßmuskulatur nach H_2O_2, Chloramin und anderen Chlorträgern an isoliert durchströmten Gefäßpräparaten.

Vom Chinon berichtet Baglioni [9], daß es am ganzen Frosch in hohen Konzentrationen fibrilläre Zuckungen der Muskulatur und bei stärkeren Verdünnungen klonische Zuckungen hervorrufe, die einer Erregung des motorischen Apparates des Rückenmarks zuzuschreiben seien. Wieland und Freyer [10] zeigen, daß Chinon rasch an den Muskel adsorbiert wird. Labes [11] sah mit Hydrochinon am Nerv-Muskelpräparat maximale Verkürzung bei Sauerstoffanwesenheit, bei Sauerstoffabwesenheit war die Verkürzung geringer und trat später ein. Auch Oettel [12] erklärt die meisten Giftwirkungen des Hydrochinons damit, daß es erst zu Chinon oxydiert wird und dieses dann seinen Sauerstoff unter Oxydation des Substrats wieder abgibt.

Methodik. Ich arbeitete mit Esculenten in der Zeit von Oktober bis Juni. Die Herzen waren nach Straub präpariert, wobei der Venensinus vor dem Abschneiden abgebunden wurde.

Um Wirkungsstärken einzelner Konzentrationen einigermaßen vergleichen zu können, ist es notwendig, sich auf eine einmalige Füllung der Kanüle mit der zu prüfenden Lösung zu beschränken. Bei mehrfachem Auswechseln summiert sich, besonders in stärkeren Verdünnungen, die Wirkung und das Bild wird verschleiert.

Wirkung der einzelnen Oxydantien.

$KMnO_4$. Einmaliger Zusatz von $KMnO_4$ 1 : 20000 bringt das Herz in wenigen Minuten zu einem Stillstand in maximaler bis zwei Drittel Systole (Abb. 1 der 1. Mitt.[1]). Nach $KMnO_4$ 1 : 100000 entwickelt sich die Kontraktur langsamer und erreicht nach 15–20 Minuten meist die halbe Höhe. Noch während der Entwicklung der Kontraktur setzt ein gleichmäßiger Abfall der Kopfpunkte ein. Diese Hypodynamie ist der Ausdruck einer Schädigung, die allmählich fortschreitend oft erst nach Stunden zum Stillstand des Ventrikels führt. Hierbei läßt manchmal die Kontraktur etwas nach, jedoch nie mehr als um 10%. Die Vorhöfe schlagen weiter und sind immer stark gebläht. $KMnO_4$ 1 : 200000 ruft eine Kontraktur bis etwa ein Drittel der Hubhöhe hervor, die Schädigung der Systole setzt später ein und ist schwächer, so daß das Herz meist nicht mehr zum Stillstand kommt. Auf das Ausmaß der Kontraktur hat die

[7] Mita, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **104**, 276 (1924). — [8] Fieger, H.: Diss. Göttingen 1919. — [9] Baglioni, S.: Z. allg. Physiol. **3**, 313 (1904). — [10] Wieland u. Freyer: Liebigs Ann. d. Chem. **477**, 8 (1929). — [11] Labes, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **139**, 120 (1929). — [12] Oettel, H.: Ebenda **183**, 319 (1936).

Vitalität des Präparates einen Einfluß, die Herzen frisch gefangener Frösche geben die stärksten Verkürzungen. Die Wirkungsgrenze liegt bei 1 : 700000. Die eingefüllte Permanganatlösung entfärbt sich und gleichzeitig tritt eine Braunfärbung des Ventrikels durch Abscheidung unlöslichen Braunsteins ein.

$NaMnO_4$ wirkt wie $KMnO_4$, nur etwas schwächer.

Benzoesäureperoxyd, hergestellt nach Botwinik und Gawrilow[13], wurde in Konzentrationen von 1 : 20000 bis 1 : 200000 geprüft (Abb. 1 der 1. Mitt.[1]). Im Vergleich zu $KMnO_4$ tritt die Kontraktur viel rascher auf und es wird meist in $^1/_2$ –1 Minute das Höchstmaß erreicht. Ein anderer Unterschied ist der, daß nach Benzoesäureperoxyd nicht so hochgradige Kontrakturen erzielt werden können wie mit $KMnO_4$.

Chinon. Das Chinon gleicht in seiner Wirkung ebenfalls dem $KMnO_4$. Konzentrationen bis 1 : 10000 bewirken in wenigen Sekunden eine $^2/_3$-Kontraktur, die nach 5—10 Minuten zum Stillstand führt (Abb. 1 der 1. Mitt.[1]). Konzentrationen von 1 : 100000 bis 1 : 200000 unterscheiden sich nicht von entsprechenden $KMnO_4$-Lösungen.

H_2O_2 fand ich stärker wirksam als Mita[7], da schon eine 1%ige H_2O_2-Lösung nach wenigen Minuten unter Rhythmusstörungen zum Stillstand in $^2/_3$-Systole führt, wobei der Kanüleninhalt stark aufschäumt, Bläschen in Ventrikel und Vorhof gebildet werden und das Gewebe sichtlich gebleicht wird. Auch 1 : 1000 H_2O_2 führt noch zur Kontraktur auf halbe Höhe, doch bleibt das Herz meist nicht stehen. Selbst 1 : 5000 bis 1 : 8000 bewirkten noch binnen 10—15 Minuten einen Anstieg der Fußpunkte bis zur halben Hubhöhe bei mäßigem Absinken der Kopfpunkte. Die Wirkungsgrenze liegt bei 1 : 10000.

Natriumselenit wurde nur orientierend geprüft und brachte in einer Konzentration von 1 : 10000 das Herz in $^2/_3$-Systole zum Stehen.

Chloramin, das als Chlorträger geprüft wurde, wirkt nur schädigend.

Osmiumsäure schädigt ebenfalls stark, ließ aber in Lösungen 1 : 100000 eine gewisse tonisierende Wirkung erkennen.

Terpentinöl. Altes, dem Licht ausgesetztes Terpentinöl enthält zahlreiche Peroxyde. Diese sind, soweit sie isoliert wurden, ölige, vollkommen wasserunlösliche Substanzen. Ich prüfte verschieden starke Terpentinöl-Ringer-Emulsionen, sah aber nur schwere Schädigungen oder Stillstehen in Diastole ohne jede Kontraktur.

Arsenwasserstoff wurde geprüft, weil Henze[14] und Jung[15] die Ansicht äußerten, daß bei seiner Wirkung intermediär entwickelte Peroxyde eine Rolle spielten. Der AsH_3 wurde aus Zink, Acidum arsenicosum und Schwefelsäure hergestellt in einer Vorratsflasche aufgefangen und durch den Kanüleninhalt geperlt.

---

[13] Botwinik u. Gawrilow: J. prakt. Chem. **148**, 180 (1937). — [14] Henze, C.: Klin. Wschr. **1938**, S. 24. — [15] Jung, F.: Biochem. Z. **302**, 294 (1939).

Läßt man AsH_3 in möglichst sauerstoffarmem Milieu (ausgekochter Ringer, keine O_2-Zufuhr) auf das Froschherz einwirken, dann kommt es in 1–2 Stunden zu einem Stillstand in Diastole (Abb. 1a). Perlt man jedoch mit dem AsH_3 gleichzeitig auch Sauerstoff durch die Kanülenflüssigkeit, so tritt in der gleichen Zeit eine Kontraktur auf (Abb. 1b). Sie erreicht oft zwei Drittel der ursprünglichen Kontraktionshöhe und bildet sich meist erst vollständig aus, wenn das Herz zum Stillstand gekommen ist. Da das Arsen sonst als lähmendes Herzgift bekannt ist, muß hier etwas Besonderes vorliegen. Eine Parallele zu dem Befund bildet die

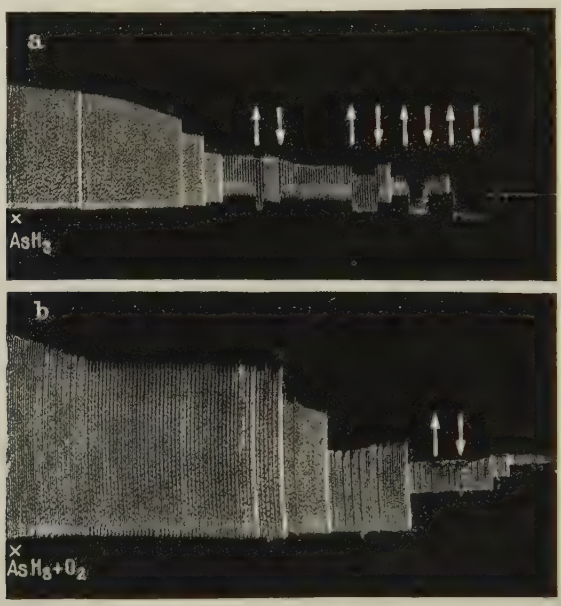


Abb. 1 a) Das Herz schlägt seit 15 Min. mit ausgekochtem Ringer ohne Sauerstoffdurchperlung. Bei × Beginn der AsH_3-Durchperlung, bei ↑↓ zeitweilige Entleerung der Kanüle: das entlastete Herz erschlafft diastolisch wie vor der Vergiftung (Ballonwirkung).
b) Bei × Beginn der AsH_3-Durchperlung gleichzeitig mit O_2. Bei ↑↓ zeitweilige Entleerung der Kanüle, das Herz bleibt in Kontraktur (keine Ballonwirkung).
Dauer des Versuches bei a) und b) 50 Min.

Angabe von Labes[16], daß AsH_3 nur in Gegenwart von Sauerstoff hämolytisch wirkt; Labes erklärt die Hämolyse durch Bildung metallischen Arsens in kolloidaler Form. Gegen die Übertragung dieser Vorstellung auf den Herzversuch scheint mir jedoch der Umstand zu sprechen, daß sowohl in sauerstoffarmem, als auch in sauerstoffreichem Medium metallisches Arsen gebildet wird und daß sich die Herzen in beiden Fällen, und zwar gleich rasch, schwärzen. Deshalb möchte ich die kontrakturerzeugende Wirkung des AsH_3 eher im Sinne von Henze auf peroxydischen (katalytisch aktivierten) Sauerstoff beziehen.

[16] Labes, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **127**, 125 (1928).

Zur Charakteristik der Kontraktur.

Dehnungseffekt. Alle beschriebenen Kontrakturen lassen sich, ähnlich wie das vom Strophanthin bekannt ist, durch Dehnung des Herzens mittels Hineinpressen der Nährflüssigkeit vorübergehend oder dauernd verstärken; stillstehende Herzen beginnen dabei vorübergehend zu schlagen. Mit diesem Dehnungseffekt dürfte auch zusammenhängen, daß diejenigen Partien des Ventrikels, die direkt in der Zugrichtung der Klammer liegen, also auch am stärksten gezogen werden, zuerst und am stärksten in Kontraktur übergehen. Dieser Teil steht häufig schon still, während die seitlichen, weniger belasteten Partien noch pulsieren.

Reversibilität. Die durch Oxydation hervorgerufenen Kontrakturen sind im allgemeinen irreversibel und nicht auswaschbar. Nur schwache Kontrakturen unter 10–15% der Ausgangshöhe verschwinden nach 1–2 Stunden, gleichgültig ob mit Normalringer ausgewaschen wird oder nicht. Bei sehr kräftigen Herzen, die nach der Vergiftung mit $KMnO_4$ 1 : 100000 noch 24 Stunden schlugen, sah ich auch $^1/_2$-Kontrakturen vollständig zurückgehen. Diese wenn auch begrenzte Reversibilität ist bemerkenswert, denn die Oxydantien werden verbraucht, wenn sie wirken und „Auswaschung" im wörtlichen Sinn kommt nicht in Frage. Man könnte höchstens an beschränkte Reduktionsvorgänge denken oder an eine Art „Heilungsvorgänge" an den geschädigten Strukturen, indem frische Molekülkomplexe an die Stelle der geschädigten treten und deren Funktion übernehmen; daß in der Substanz des Herzens Lipoide und Eiweißkörper frei werden und selbst in den Kanüleninhalt übertreten können, ist bekannt.

Abhängigkeit vom p_H. Die Kontrakturen nach Oxydantien sind in dem geprüften Bereich von p_H 6 bis p_H 8 im allgemeinen unabhängig von der H′-Ionenkonzentration der Nährlösung. Beim Abweichen nach der sauren Seite hin, entwickeln sich schwächere Kontrakturen. Da aber auch anderweitig geschädigte Herzen eine geringere Kontrakturbereitschaft zeigen, sind daraus keine Schlüsse zu ziehen. Eine voll entwickelte Kontraktur ist durch nachheriges Verschieben des p_H nicht zu verändern.

Ca-Mangel. Die durch Oxydantien hervorgerufene Kontraktur ist weitgehend unabhängig vom Ca-Gehalt der Nährlösung. Bei einem Ca-Gehalt unter $^1/_8$ ist die Kontraktur schwächer, doch tritt sie auch bei völligem Ca-Mangel am stillstehenden Herzen auf. Umgekehrt ist die einmal eingetretene Kontraktur durch Ca-Mangel nicht mehr behebbar.

Die in der 1. Mitt. beschriebene „therapeutische" Wirkung von Oxydantien bei Ca-Armut ist in der Straubschen Versuchsanordnung nur in beschränktem Umfang nachweisbar. Die Tätigkeit des durch Ringer mit $^1/_2$ Ca geschädigten Herzens wird durch Benzoesäureperoxyd 1 : 300000, durch H_2O_2 1 : 5000 sowie beim Durchperlen von AsH_3 in Sauerstoffgegenwart unter gleichzeitigem Ansteigen der Fußpunkte ge-

bessert, jedoch nur vorübergehend. Der Ca-Mangelschaden wird auch nie so vollständig ausgeglichen, daß die Exkursionsgröße bei normalem Ca-Gehalt erreicht würde. Wovon es abhängt, daß der Ca-Mangel bei den Versuchen an den beiden Apparaturen verschieden beeinflußbar ist, vermag ich nicht anzugeben.

Hypodyname Herzen. An Herzen, die durch langes Schlagen, Auswaschen oder Sauerstoffmangel hypodynam geworden sind, ist durch alle geprüften Stoffe eine Besserung der Tätigkeit zu erzielen: die Hubhöhen werden für mehrere Minuten fast normal. Nach einiger Zeit setzt allerdings die beschriebene Kontraktur mit neuerlicher Abnahme der Hubhöhen ein.

Beeinflussung der Wirkung; Gegenwirkungen.

Reduktionsmittel. Da sich die Oxydationskontraktur, wie erwähnt, in einem gewissen Grade zurückbilden kann und dabei an Reduktionsvorgänge zu denken war, wurden Reduktionsmittel, und zwar Natriumarsenit, Natriumsulfit und Hydroxylamin geprüft; es konnte damit jedoch weder die einmal eingetretene Kontraktur gelöst noch die spontane Rückbildung gefördert werden. Für sich allein bewirken die Reduktionsmittel, je nach der Konzentration, einen mehr oder minder starken Abfall der Hubhöhe.

Wurden die Herzen jedoch mit einem der Reduktionsmittel vorbehandelt und wurde nach kurzem Auswaschen das Oxydans zugesetzt, dann war die Wirkung erheblich abgeschwächt, offenbar weil das Oxydans durch das im Herzen adsorptiv zurückgehaltene Reduktionsmittel vom Wirkungssubstrat abgelenkt wurde, denn es war dann auch die Entfärbung des $KMnO_4$ stark beschleunigt. Wenn durch längere Zeit ausgewaschen wurde, kehrte die alte Empfindlichkeit wieder zurück.

Redoxsysteme. Im Schrifttum sind Hinweise zu finden, daß die Einführung von Redoxsystemen Einfluß auf die Oxydationsvorgänge hat. So gibt v. Szent-Györgyi[17] an, daß Ascorbinsäure den Pigmentierungsvorgang in der Haut hemmt und erklärt dies mit einer oxydationshemmenden Wirkung. Holtz[18] beobachtete, daß Ascorbinsäure die Peroxydasewirkung von Pankreasdiastase gemessen an der Blaufärbung von Quajakharz durch H_2O_2 abschwächt.

Auf die Wirkung der Oxydantien am Froschherzen war Glutathion ohne jeden Einfluß. Bei der Ascorbinsäure wurde nur in der Kombination mit H_2O_2 ein Einfluß insofern beobachtet, als die Kontraktur leichter reversibel wird; gibt man H_2O_2 1 : 5000 mit 0,1 % Ascorbinsäure ins Herz, dann tritt die Kontraktur unverändert ein, löst sich jedoch bei mehrmaligem Auswaschen in einer Stunde fast vollständig.

---

[17] Szent-Györgyi, v.: Science **72**, II, 125. — [18] Holtz, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 514 (1936).

Blausäure. HCN wurde in der Erwartung geprüft, daß die Wirkung des H_2O_2 verstärkt sein müsse, wenn die Katalase unwirksam wird und der H_2O_2 beim Zusammentreffen mit dem Herzen nicht so rasch zerlegt

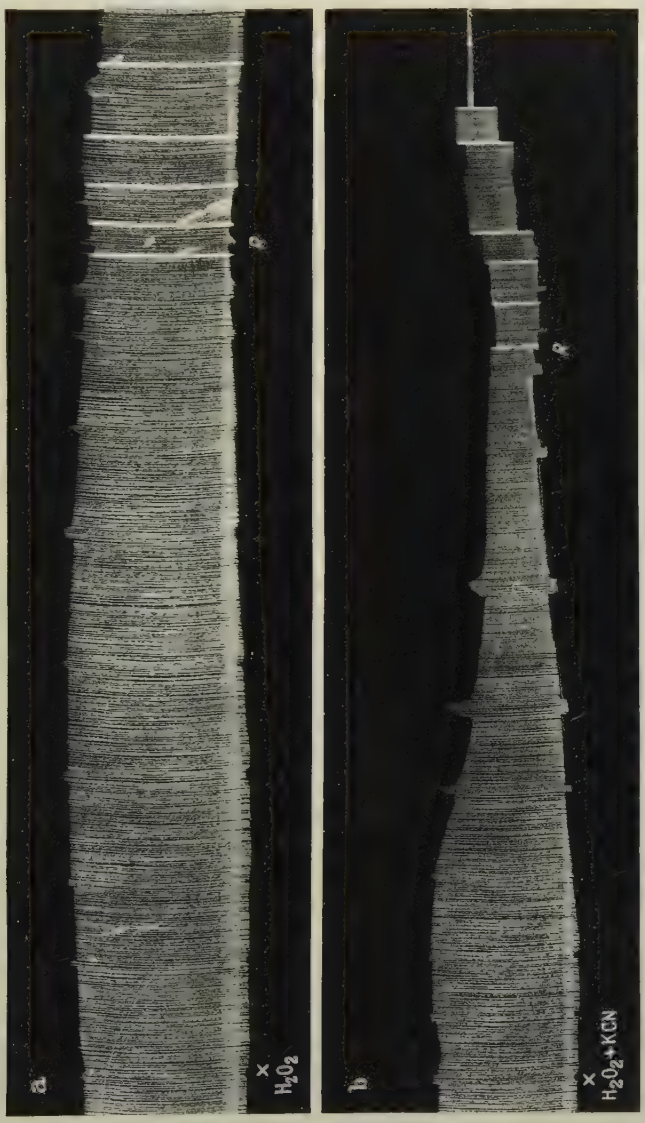


Abb. 2. a) Bei × H_2O_2 1 : 15000, bei *R* Normalringer. b) Bei × H_2O_2 1 : 15000 + m/30000 KCH bei *R* Normalringer. Dauer der Schreibung bei a) und b) 40 Min.

wird. Tatsächlich gelang es nach Zusatz von m/30000 KCN zu einer Verdünnung von H_2O_2 1 : 15000, die für sich allein vollständig unwirksam ist (Abb. 2a), einen fast maximalen systolischen Stillstand zu erhalten (Abb. 2b). Diese Kontrakturen nach niedrigen H_2O_2-Konzentrationen in

HCN-Gegenwart entwickeln sich langsamer und werden vollständiger als die Kontrakturen nach hohen H_2O_2-Konzentrationen. Dies kommt offenbar daher, daß der H_2O_2 tiefer in das Gewebe eindringen kann, wenn die Katalase vergiftet ist. J. F. Heymans[19] hatte schon beobachtet, daß H_2O_2 in Gegenwart von HCN stärker desinfiziert und besser in die Tiefe wirkt und in orientierenden Versuchen ließ sich zeigen, daß auch die hämolytische Wirkung des H_2O_2 durch HCN erheblich verstärkt wird.

Die Überlegungen Jungs[20] über die Rolle des Cyanids bei der Sulfhämoglobinbildung waren der Anlaß, das KCN auch bei anderen Oxydantien zu prüfen; das Ergebnis war jedoch negativ. Auch ein Antagonismus, wie ihn Hedbom[21] zwischen HCN und der systolisierenden Wirkung des Antiarins beobachtet, konnte nicht festgestellt werden.

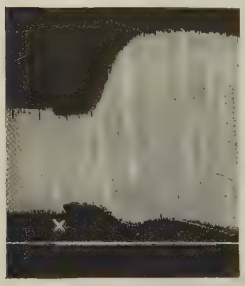


Abb. 3. Herz in unvollkommener $KMnO_4$-Kontraktur mit starker Hypodynamie. Bei × tropfenweiser Zusatz von Ringer-Lecithin-Emulsion.

Campher, Cocain, Äther, Chloroform. Da nach älteren Angaben des Schrifttums diese Stoffe fähig sein sollen, die Strophanthinkontraktur zu beheben, untersuchte ich, ob sie die Wirkung der Oxydantien beeinflussen; auch diese Versuche waren negativ.

Lecithin. Seit den Untersuchungen Clarks[22] ist bekannt, daß die Auswaschhypodynamie des Froschherzens durch Verlust von Lipoiden bedingt ist und durch den Zusatz von Ätherextrakten aus Serum und dgl. behoben werden kann. Da auch bei der Wirkung der Oxydantien neben der Kontraktur ein hypodynamer Zustand, kenntlich am Absinken der Kopfpunkte, eintritt, prüfte ich Lecithin ex ovo, Merck in Form einer Emulsion in Ringer. Es konnte ja an eine Zerstörung der Lipoide gedacht werden, zumal viele von ihnen leicht oxydabel sind. In der Tat läßt sich damit der hypodyname Zustand beheben und die Kopfpunkte steigen zur ursprünglichen Höhe an (Abb. 3). Auf die Entwicklung und Beständigkeit der Kontraktur hat das Lecithin jedoch keinen Einfluß.

Abhängigkeit der Kontraktur vom Vorhof. Die Annahme von Tonuszentren im Oberherzen wird heute wohl allgemein abgelehnt (zusammenfassende Darstellung bei Meek[23] und Lendle[24]). Die Abschwächung der Kontraktur nach Abtrennung der Kammer vom Vorhof geht vielleicht auf gewisse Veränderungen der Ventrikeltätigkeit, besonders der Frequenz nach Ausschaltung des Oberherzens zurück. So sahen Weizsäcker[25] und Schlossmann[26] den Eintritt des Strophanthin-

[19] Heymans, J. F.: Arch. internat. Pharmacodynam. **37**, 196 (1930). — [20] Jung, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 16 (1940). — [21] Hedbom, K.: Ebenda **45**, 317 (1901). — [22] Clark, A. J.: J. Physiol. (Brit.) **47**, 66 (1913/14). — [23] Meek, W. J.: Physiol. Rev. (Am.) **7**, 259 (1927). — [24] Lendle, L.: Heffters Handb., Erg.-Bd. **1**, 156 (1935). — [25] Weizsäcker, V.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **72**, 282 (1913). — [26] Schlossmann, H.: Ebenda **102**, 361 (1926).

stillstandes der isolierten Kammer und Amsler und Fröhlich[27] die Kontraktur nach Chloralhydrat von der Frequenz abhängen; nach Verzar und seinen Mitarbeitern[28] besteht auch bei den Kontrakturen des Skelet-muskels eine Abhängigkeit dieser Art.

In gleicher Weise läßt sich beim $KMnO_4$ zeigen, daß das Auftreten der Kontraktur von der Schlagfrequenz abhängt. Reizt man den durch zweite Stanniusligatur isolierten Ventrikel nach der Einfüllung der Permanganatlösung künstlich mit der Frequenz eines normal schlagenden Herzens, dann kommt es zur Kontraktur wie am ganzen Herzen und die Kurve unterscheidet sich nicht von einer Normalkurve. Bei geringerer Reizfrequenz fällt die Kontraktur jedoch schwächer aus und bei einem Schlag pro Minute bleibt selbst $KMnO_4$ 1 : 50000 durch 30 Minuten wirkungslos. Mitunter gelingt es nach einer derartigen Periode langsamer Schlagfolge noch die Kontraktur hervorzurufen, wenn man die Frequenz erhöht.

Besprechung der Ergebnisse.

Zunächst ist einmal festzustellen, daß es sich bei der beschriebenen Wirkung von Oxydantien auf das Froschherz wirklich um die Folge von Oxydationsvorgängen handelt und nicht etwa um die Wirkung von Zerfallsprodukten der angewandten Stoffe. Aus dem $KMnO_4$, das am meisten gebraucht wurde, entsteht, sobald es mit der organischen Substanz reagiert, Braunstein und aus dem AsH_3 metallisches Arsen, wie sich an der Verfärbung der Herzen unmittelbar erkennen läßt. Nun ist bekannt, daß feinst verteilte Stoffe wie Tierkohle, Quarzsand und Kaolin zum mindesten am geschädigten Herzen kontraktionsfördernd wirken (Krautwald und Stuhlmann[29]) und daher war denkbar, daß beim $KMnO_4$ und AsH_3 die korpuskulär ausfallenden Reaktionsprodukte das eigentlich Wirksame seien, ähnlich wie es von Labes[16, 30] für den Mechanismus der AsH_3-Hämolyse angenommen wurde. Der Einwand ist aber hinfällig, denn erstens ließ sich die Wirkung durch Vorbehandlung der Herzen mit Reduktionsmitteln, wodurch die Bildung von MnO_2 nur gefördert worden sein konnte, abschwächen und zweitens waren auch Oxydantien, die keine korpuskulären Rückstände geben, wirksam; nämlich H_2O_2, ferner Chinon, das in Hydrochinon übergeht und auch das Benzoesäureperoxyd kann hier angeführt werden, da die frei werdende Benzoesäure bei 0° immer noch 1 : 46 löslich ist.

Dann ist darauf zu verweisen, daß die beschriebenen Versuche geeignet sind, die Wirkung der Lichtstrahlen auf das sensibilisierte Herz im Sinne der derzeit geltenden Theorie vom Mechanismus der photodynamischen Wirkung aufzuklären. An Hand eines Modellversuches machte seinerzeit

[27] Amsler, C., u. A. Fröhlich: Z. exper. Med. **11**, 105 (1920). — [28] Verzar, Fr., J. Bögel u. W. Szanyi: Biochem. Z. **132**, 70 (1922). — [29] Krautwald, A., u. M. Stuhlmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 152 (1938). — [30] Labes, R.: Ebenda **129**, 159, 176 (1928); **131**, 322 (1928).

Straub[31] darauf aufmerksam, daß bei der photodynamischen Wirkung vermutlich intermediär auftretende Peroxyde eine Rolle spielen und seither sammelte sich eine Reihe weiterer Beobachtungen an, die die Richtigkeit dieser Auffassung erwiesen (zusammenfassende Darstellung bei Blum[32]) Amsler und Pick[33] fanden nun, daß Froschherzen, die mit Eosin oder mit Hämatoporphyrin sensibilisiert werden, bei der Bestrahlung in eine Kontraktur übergehen, die bei stärkeren Graden irreversibel ist und nur eintritt, wenn ausreichend Sauerstoff zugeführt wird. Da meine Versuche zeigen, daß aktiver Sauerstoff tatsächlich eine derartige Wirkung auf das Froschherz entfaltet, ist die Kette der Beweise für die Oxydationstheorie photodynamischer Wirkungen nun auch für das Froschherz geschlossen. Dies gilt anscheinend für alle kontraktilen Organe, denn sowohl glatte (Adler[34]) als auch Skeletmuskeln (Lippay[35]) geraten bei der photodynamischen Einwirkung in irreversible Kontraktur, sofern Sauerstoff vorhanden ist und werden durch Oxydantien in Kontraktur versetzt (De Jongh[5, 36], Fieger[8], Labes[11]).

Über den Zusammenhang von oxydativer Wirkung und Kontraktur läßt sich, so verlockend es ist, der Frage nachzugehen, leider nichts Bestimmtes aussagen. Bei den gleichfalls Kontraktur erzeugenden Aldehyden (H. H. Meyer[37], Hesse[38]) und den Gerbstoffen (Handovsky[39]) könnte man an die Entstehung von Anlagerungsverbindungen an der Oberfläche der Muskelzellen denken, die „verdichtend" wirken und so die Funktion beeinflussen (Druckrey[40]). Bei den Oxydantien findet sich jedoch kein Anhaltspunkt für eine derartige „adstringierende" Wirkung, im Gegenteil weist die Ödembildung (Arbeiten aus dem physiologischen Institut in Göttingen[4]), sowie eigne Beobachtungen über rasche Ödembildung am Trendelenburgschen Präparat und in der Subcutis des Kaninchens bei intravenöser Injektion auf eine Zerstörung der Membranen hin. Die eigentümlichen Eindringungsverhältnisse[4] bei den Oxydantien machen es überdies wahrscheinlich, daß bei jeder stärkeren Wirkung nicht nur die Oberfläche, sondern auch das Innere der Zellen ergriffen wird; dafür spricht auch, daß hohe Konzentrationen, die das Herz sofort stillstellen, unmittelbar oder nach kurzer diastolischer Lähmung zur Kontraktur führen. Das Herz stirbt im maximal verkürzten Zustand ab.

Vom lichtkatalytisch aktivierten Sauerstoff ist bekannt, daß er unter den Aminosäuren nur Tyrosin und Tryptophan angreift (Harris[41]) und

[31] Straub, E. W.: Münch. med. Wschr. **1904**, S. 1093; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **51**, 583 (1904). — [32] Blum, H. F.: Physiol. Rev. (Am.) **12**, 23 (1932). — [33] Amsler, C., u. E. Pick: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **82**, 86 (1918). — [34] Adler, L.: Ebenda **85**, 152 (1920). — [35] Lippay, F.: Pflügers Arch. **224**, 587 (1930). — [36] De Jongh, S. E.: Arch. internat. Pharmacodynam. **44**, 446 (1932/33); **45**, 18 (1933). — [37] Meyer, H. H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **32**, 117 (1893). — [38] Hesse, E.: Z. exper. Med. **107**, 153 (1939). — [39] Handovsky, H., u. T. Masaki: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **100**, 257 (1923). — [40] Druckrey, H., u. N. Brock: Ebenda **188**, 186 (1938). — [41] Harris, D. T.: Biochem. J. (Brit.) XX, 288 (1926).

daß die Oxydation bis zu Ammoniak und Kohlensäure führt (Gaffron[42]). Bei der weitgehenden Übereinstimmung der photodynamischen Wirkung mit jener der Oxydation darf man daher vielleicht annehmen, daß dies am Herzen auch so ist. Dann würde die Erwägung über den Zusammenhang von oxydativer Wirkung und Kontraktur mit der Frage enden, wieso die Zerstörung von Tyrosin und Tryptophan (und wohl auch Cystein) kontrakturierend wirkt.

Leicht oxydabel sind ferner die Lipoide; da Lipoidverlust das Herz hypodynam macht, die Oxydantien auch eine mehr oder minder starke Hypodynamie erzeugen und diese durch Lecithinemulsionen behoben werden kann, könnte man, wie bereits angedeutet wurde, diese Hypodynamie auf die Zerstörung der Lipoide wohl an der Grenzfläche beziehen.

Schließlich sind die mit den Oxydantien gewonnenen Ergebnisse noch für die Lehre von der Digitaliswirkung von einigem Interesse. Einige der beobachteten Erscheinungen waren bereits von der Digitaliswirkung her bekannt; nun zeigt sich, daß sie nicht spezifisch der Digitaliswirkung zuzuordnen sind, sondern daß es sich offenbar um ein Syndrom handelt, das zum Kontrakturphänomen als solchem gehört, weil es eben durch Stoffe der verschiedensten Art hervorgerufen wird. Es sind dies die in der 1. Mitteilung beschriebenen Wirkungen auf die Dynamik des Froschherzens, die Eigentümlichkeit der Kontraktur, sich nach Dehnung des Herzens oft unter Auftreten einiger Schläge zu verstärken, die Abhängigkeit des tonisierenden Effektes von der Frequenz des Herzschlages und die therapeutische Wirkung am hypodynamen Herzen.

Zusammenfassung.

1. Die Oxydantien $KMnO_4$, $NaMnO_4$, Benzoesäureperoxyd, Chinon, H_2O_2, Natriumselenit (und Osmiumsäure) wirken kontrakturierend auf das Froschherz.

2. AsH_3 wirkt bei Sauerstoffgegenwart kontrakturierend, bei Sauerstoffabwesenheit diastolisch lähmend; für die Kontraktur werden intermediär auftretende Peroxyde verantwortlich gemacht.

3. Diese Kontrakturen sind nahezu irreversibel und unabhängig vom p_H und der Ca''-Konzentration.

4. Die erhobenen Befunde sind Oxydationswirkungen und geeignet, die geltende Theorie von der oxydativen Natur photodynamischer Wirkungen auch für das Froschherz zu bestätigen.

5. Möglichkeiten über Art und Ort der Oxydation werden erörtert.

[42] Gaffron, H.: Biochem. Z. **179**, 157 (1926).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Gießen.
(Direktor: Prof. Dr. F. Hildebrandt.)

Histamin im Blut und Gewebe unter dem Einfluß von Kurzwellen, Diathermie und Fango*.

Von

F. Hildebrandt.

(Eingegangen am 12. Dezember 1940.)

Experimentelle Ergebnisse über die Wirkung der Kurzwellen liegen bisher nur in spärlichem Umfange vor. Sichergestellt ist in erster Linie ein intensiver Wärmeeffekt, der sich bei dem starken Durchdringungsvermögen der Kurzwellen auch in die Tiefe erstreckt. Im Gegensatz zur Diathermie, bei der sich mehr die oberflächlichen Hautschichten und das Unterhautzellgewebe erwärmen, werden bei der Kurzwellendurchflutung auch Muskulatur und Knochen in den Bereich der Wärmewirkung einbezogen. Kleinere Tiere, wie Ratten oder Mäuse sterben nach kurzer Zeit, wenn sie in sehr starke Kondensatorfelder hineingebracht werden; ebenso gehen Fische unter starker Erwärmung zugrunde. [Lit. bei Schliephake (1).]

Bisher ist noch nicht geklärt, ob außer der sichergestellten Wärmewirkung auch noch spezifische elektrische, den Kurzwellen eigene Wirkungen existieren. Schliephake selbst gibt diese Möglichkeit zu, während andere Autoren, vor allem Kowarschik (2), diese selektive Wirkung direkt bestreiten.

Weiter sind Gefäßreaktionen unter Kurzwellendurchflutungen sichergestellt (1). In der menschlichen Therapie treten sie eindeutig zutage, der durchflutete Bezirk zeigt eine vermehrte Blutfülle, auch subjektiv läßt sich ein intensives Wärmegefühl feststellen.

Die Gefäßreaktionen zeigen eine gewisse Ähnlichkeit mit der Wirkung des Histamins, dem in neuerer Zeit auch eine Rolle bei der Durchströmungsregulierung der Gewebe zugesprochen wird (3). Es war daher verlockend einmal zu untersuchen, ob unter dem Einfluß der Kurzwellen Änderungen des Histamingehaltes im Blute und Gewebe eintreten würden. Da bisher mit Sicherheit nur ein Wärmeeffekt der Kurzwellen nachgewiseen ist, war es notwendig, auch andere Formen der Wärmeapplikation zur Untersuchung heranzuziehen und sie mit der Kurzwellenwirkung zu vergleichen. Wir haben zu diesem Zweck Diathermie, Fangopackung und Erwärmung durch Solluxlampe in der gleichen Richtung geprüft.

* Ein Teil der Ergebnisse wurde auf der Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft, Berlin 1938, und auf dem Internationalen Physiologen Kongreß in Zürich 1938 vorgetragen, vgl. auch Klin. Wschr. **1940**, S. 270.

Als Versuchstiere dienten Hunde, Katzen und Kaninchen. Zwischen den ersteren beiden und dem Kaninchen besteht ein prinzipieller Unterschied bezüglich des Histamingehaltes im Blute (4). Hund und Katze zeigen verhältnismäßig niedrige Histaminwerte im Blute, während das Kaninchen einen hohen Wert aufweist. Der Histamingehalt im Blute des Hundes und der Katze entspricht etwa den Werten des Menschen. Die in der Literatur angegebenen Histaminwerte (4) haben auch wir bei unseren Tieren gefunden.

Die Bestimmung des Histamins erfolgte nach der von Code (5) modifizierten Methode Barsoum und Gaddums. Auf einen Atropinzusatz zum Meerschweinchendarm mußten wir verzichten wegen der sehr geringen Histaminmengen, die nachgewiesen werden sollten. Wir hätten sonst zu den Bestimmungen im Blute zu große Blutmengen entnehmen müssen. Da wir aber öfters — zum Teil in einstündigen, zum Teil sogar in halbstündigen Intervallen — das Histamin im Blute bestimmten, hätte eine öftere Entnahme größerer Blutmengen die Verhältnisse unübersichtlich gemacht. Es ist also in unseren Versuchen nicht auszuschließen, daß auch andere Substanzen mit gefäßerweiternder Wirkung, die durch Atropin aufgehoben wird, mit erfaßt wurden. Praktisch ist andererseits Histamin die einzige Substanz, die das eingreifende Isolierungsverfahren übersteht [Dale (3)].

Zu den Untersuchungen benutzten wir zunächst den Originalapparat von E. Schliephake, mit dem er bereits vor Jahren in Jena seine Untersuchungen begonnen hatte. Da er aber an Altersschwäche litt und so die von ihm ausgesandte Kurzwellenenergie nicht immer gleichmäßig war, bin ich der Ossan-Beulwitz-Stiftung sehr zu Dank dafür verpflichtet, daß sie mir für die späteren Untersuchungen einen Kurzwellenapparat „Isotherm“ zur Verfügung stellte.

Die hier im Zusammenhang mitgeteilten Versuche wurden im Laufe der letzten Jahre durchgeführt. Begonnen wurde zunächst mit Versuchen an Hunden, deren Thorax oder Bein $^1/_2$ Stunde mit Kurzwellen durchflutet wurde. Die Ausgangshistaminwerte lagen mit wenigen Ausnahmen zwischen 0,05 und 0,1 γ Histamin/ccm Blut, stimmen also mit den im Schrifttum angegebenen Werten überein. Zur Schonung der Tiere wurden sie in Narkose (Pernocton) versetzt und durch einen Heizkasten mit elektrischen Birnen vor Abkühlung bewahrt. Die Blutentnahmen erfolgten in $^1/_2$—2stündigen Intervallen und wurden meistens so lange fortgesetzt, bis die Änderung des Histamingehalts abgeklungen war.

Um es vorwegzunehmen, die Resultate waren nicht gleichmäßig, und zwar weder in bezug auf die Dauer, noch auf den Zeitpunkt des Eintritts der Änderung des Histamingehalts im Blute. Dabei muß allerdings berücksichtigt werden, daß bei negativ verlaufenen Versuchen die Änderung des Histamingehalts vielleicht nicht erfaßt worden ist. Bei manchen Tieren trat nämlich im Anschluß an die Durchflutung eine sofortige Steigerung des Histamingehalts (bestimmt im Gesamtblut) auf, die ebenso schnell verschwand, wie sie eingetreten war. Es ist also gut möglich, daß in einer

Reihe von Versuchen das Maximum der Steigerung überhaupt nicht erfaßt wurde, weil zu dieser Zeit keine Blutentnahme erfolgte.

Im einzelnen ergaben sich folgende Resultate:

Versuche mit Durchflutung des Thorax.

Wir verfügen über 11 Versuche.

Tabelle 1. Versuche mit Thoraxdurchflutung beim Hund.
Dauer der Durchflutung $^1/_2$ Stunde, in den mit * bezeichneten Versuchen 1 Stunde.
Histamingehalt im Blute in γ/ccm.

Versuch Nr.	Vor K. W.	Nach K. W.									
		sofort	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	5 Std.	7 Std.	8 Std.	22 Std.	24 Std.
1	0,068	—	0,50	—	0,25	—	—	0,2	—	—	0,02
2	0,10	—	0,04	—	0,04	—	—	0,2	—	0,16	—
6	0,066	0,134	—	0,10	—	0,02	—	—	0,03	—	—
5	< 0,05	0,066	—	0,134	—	—	0,10	—	0,066	—	0,04
3	0,06	—	0,134	—	0,166	—	—	0,09	—	—	—
20	0,10	0,10	0,0825	—	0,086	—	0,25	—	—	—	—
17	0,10	0,066	0,05	0,20	—	0,10	—	0,10	—	—	—
15	0,10	0,06	0,075	0,075	—	—	—	0,075	—	—	0,0625
12*	0,067	0,20	0,14	0,30	0,10	—	0,075	0,075	—	—	—
11*	0,083	0,05	0,05	—	0,12	—	0,10	0,04	—	—	—
10*	0,066	0,06	0,10	0,16	0,04	—	0,08	—	—	—	—

Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist der Anstieg der Histaminwerte im Blute bei den einzelnen Hunden verschieden hoch und auch von verschieden langer Dauer. Auch der Eintritt des Maximums der Steigerung läßt keine Gesetzmäßigkeit erkennen. In manchen Versuchen tritt sofort im Anschluß an die Kurzwellendurchflutung eine Steigerung ein, meistens ist aber zu diesem Zeitpunkt noch keine Änderung des Histamingehalts festzustellen, oder sogar eine leichte Erniedrigung. Gewöhnlich tritt das Maximum eine bis mehrere Stunden nach der Durchflutung auf und geht langsam wieder auf normale oder auch deutlich erniedrigte Werte gegenüber dem Ausgangshistamingehalt zurück. In einem Versuch (Nr. 15) blieb sogar jede Steigerung aus, und es war nur eine Erniedrigung, allerdings geringfügigen Ausmaßes, festzustellen. Es muß auch hier wieder hervorgehoben werden, daß uns in einem oder dem anderen Versuch das Maximum der Steigerung entgangen sein kann, weil schon aus äußeren Gründen nicht regelmäßig alle 1-Stundenwerte erfaßt werden konnten, und so zumal bei nur vorübergehender Erhöhung des Histamingehalts die Steigerung in die Stunden hineingefallen sein kann, in denen gerade kein Blut entnommen wurde. Immerhin besteht kein Zweifel daran, daß im Anschluß an die Kurzwellendurchflutung, und zwar entweder sofort oder auch im Laufe der nächsten Stunden der Histamingehalt im Blute beträchtlich erhöht ist.

Versuche mit Beindurchflutung.

In einer weiteren Versuchsserie wurde das Hinterbein von Hunden $^1/_2$ Stunde lang mit Kurzwellen durchflutet.

Tabelle 2. Versuche mit Beindurchflutung beim Hund.
Dauer der Durchflutung $^1/_2$ Stunde (in Versuch Nr. 54 3 Stunden). Histamingehalt im Blute in γ/ccm. Blutentnahme aus der Vene des durchfluteten Beines.

Versuch Nr.	Vor K. W.	Während K. W.		Nach K. W.							
		1 Std.	2 Std.	sofort	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	5 Std.	7 Std.	22 Std.
4	0,010	—	—	0,010	—	< 0,010	—	0,02	—	0,06	—
22	0,01	—	—	0,05	0,05	0,05	0,05	—	—	0,033	0,1
21	0,30	—	—	0,1	0,25	0,25	0,25	—	—	0,12	—
23	0,075	—	—	0,075	0,10	0,10	2,0	—	—	0,05	0,063
26	0,05	—	—	0,07	0,60	0,10	0,10	—	0,067	0,083	0,083
28	0,075	—	—	0,083	0,043	0,033	0,037	—	0,05	0,05	0,05
29	0,075	—	—	0,066	0,05	0,06	0,05	—	0,05	0,066	—
51[1]	0,0375	—	—	—	0,044	0,066	—	0,10	—	0,025	—
54	0,075	0,06	0,042	0,033	0,025	0,017	0,05	0,025	0,025	0,02	—

[1] Histaminbestimmung nicht aus Vena fem., sondern aus Art. brach.

In einem Versuch (Nr. 51) wurde das Histamin im arteriellen Blute bestimmt in Analogie zu den Durchflutungsversuchen am Thorax. Es ergab sich wieder die übliche Steigerung des Histamingehalts mit einem Maximum nach 4 Stunden. Bei den anderen Tieren wurde das Blut aus der direkt aus dem durchfluteten Gewebe stammenden Vene entnommen, und zwar deswegen, weil angenommen werden konnte, daß dieses Blut einen besonders hohen Histamingehalt aufweisen würde, da es sich noch nicht mit dem aus den nicht durchfluteten Körperpartien stammenden Blut gemischt hatte. Merkwürdigerweise waren aber die Histaminwerte in dem aus dem durchfluteten Gewebe stammenden Blut keineswegs stärker erhöht, wie aus der Tabelle 2 hervorgeht, im Gegenteil, es wurde in der überwiegenden Mehrzahl der Versuche eine nur geringe Änderung der Histaminwerte gefunden, und zwar auch in einem Versuche (Nr. 54), in dem durch die Durchflutung über den üblichen Wert von $^1/_2$ Stunde auf 3 Stunden ausgedehnt wurde. Es besteht aber auch hier wieder die Möglichkeit, daß in den einzelnen Versuchen das Maximum der Steigerung der Histaminausschwemmung nicht erfaßt wurde, weil gerade zu diesem Zeitpunkt keine Blutentnahme erfolgte. Auch muß daran gedacht werden, daß bei der Durchflutung des Thorax gerade die an Histamin so beonders reiche Lunge von den Kurzwellen erfaßt wurde, und daß die Ausschwemmung von Histamin infolgedessen eine besonders starke und nachhaltige war.

Kurzwellen und Leukocyten.

Auf der Suche nach der Quelle, aus der das im Blute vermehrt auftretende Histamin stammen könnte, war zunächst einmal zu prüfen, ob im Blute selbst Veränderungen auftreten, die den erhöhten Histamin-

gehalt erklären könnten. Nach Codes (6) Untersuchungen findet sich das Histamin des Gesamtblutes vor allem in den weißen Blutkörperchen. Am Kaninchen haben v. Oettingen und Schultze-Rhonhof (7) wenige Minuten nach Kurzwellendurchflutung einen starken Abfall der weißen Blutzellen beobachtet, der nach 1—3 Stunden in eine Hyperleukocytose umschlug. Das Maximum wurde nach 3 Stunden erreicht, und erst nach 9—24 Stunden fanden sich wieder normale Leukocytenwerte. Es sah zunächst so aus, als ob die von den Autoren gefundenen Veränderungen des weißen Blutbildes die von uns festgestellten Änderungen der Bluthistaminwerte erklären könnten. Denn sowohl das Maximum der Leukocytose fiel auf das Maximum der Steigerung der Bluthistaminwerte, als auch der anfängliche Leukocytensturz ging der in manchen Versuchen beobachteten anfänglichen Verringerung des Bluthistamins parallel. Es war daher zunächst zu prüfen, ob auch beim Hund im Anschluß an Kurzwellendurchflutung eine Änderung der Leukocytenwerte auftritt. Dies war tatsächlich der Fall, wie aus Tabelle 3 hervorgeht.

Das Maximum der Leukocytose lag zu verschiedenen Zeiten, meistens in der Zeit zwischen der vierten und der siebenten Stunde. Auch ein Hund mit schon vorher bestehender sehr starker Leukocytose (Nr. 25) ließ in diesem Zeitraum noch eine Vermehrung der abnorm hohen Leukocytenwerte erkennen. 24 Stunden nach der Kurzwellendurchflutung war die Leukocytose auf etwa die Hälfte des ursprünglichen Ausgangswertes abgesunken. In einigen Versuchen war auch eine anfängliche Abnahme der Leukocyten festzustellen. Auch die zeitlichen Verhältnisse schienen ganz gut zu den Änderungen des Histamingehalts im Blute zu passen, denn das Maximum der erreichten Werte fiel in die Zeit der höchsten Bluthistaminwerte. Die eingehendere Untersuchung ergab jedoch keinerlei Zusammenhang, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht, die aus Versuchen stammt, in denen zu gleichen Zeitpunkten sowohl das Histamin im Blute wie auch die Leukocyten bestimmt wurden.

In den vier angeführten Versuchen trat regelmäßig eine mehr oder minder starke Leukocytose auf, deren Maximum entweder um die zweite bis vierte Stunde oder auch in einen noch späteren Zeitpunkt fiel. Die Steigerung der Histaminwerte im Blute war bei allen Versuchen nicht sehr erheblich, in dem einen Versuch mit zweistündiger Durchflutung war sogar eine deutliche Verminderung der Bluthistaminwerte festzustellen. Jedenfalls fielen aber die Maxima der Histaminwerte in keinem der Versuche mit dem Maximum der Leukocytose zusammen.

Histamingehalt des Muskels und der Haut unter dem Einfluß der Kurzwellen.

Da somit das Blut selbst bzw. die Leukocyten als Quelle des vermehrt im Blute auftretenden Histamins ausfielen, konnte dieses nur aus dem Gewebe stammen. Bei der starken Tiefenwirkung der Kurzwellenstrahlen

Tabelle 3. Versuche mit Durchflutung beim Hund.

Dauer der Durchflutung $^1/_2$ Stunde. Leukocytenwerte (angegeben in 1000).

Versuch Nr.	Vor K. W.	Während K. W.		Nach K. W.								
		10 Min.	20 Min.	sofort	$^1/_2$ Std.	1 Std.	2 Std.	3 Std.	5 Std.	7 Std.	8 Std.	24 Std.
24	11,6	—	—	11,25	—	8,95	8,1	10,3	—	10,35	9,3	13,4
25	33,0	—	—	36,4	—	35,9	37,3	39,25	—	40,0	37,4	18,4
27	6,85	6,9	6,9	9,2	8,0	8,15	10,3	11,0	11,35	8,2	7,9	11,1
30	12,4	11,6	11,9	11,8	11,8	10,3	14,5	13,3	16,5	15,7	13,9	†
31	7,05	7,0	7,3	9,1	8,8	12,65	16,85	17,45	11,65	13,4	11,2	—
32	8,8	9,4	10,6	10,3	8,0	8,6	8,2	8,7	8,45	8,35	8,7	—

Tabelle 4. Versuche mit Durchflutung beim Hund.

Dauer der Durchflutung $^1/_2$ Stunde. Leukocytenwerte — (Bluthistaminwerte in γ/ccm.)

Versuch Nr.	Vor K. W.	Während K. W.		Nach K. W.							
		1 Std.	2 Std.	sofort	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	6 Std.	8 Std.	24 Std.
55	15,7 (0,013)	—	—	—	15,2 (< 0,013),	26,2 (< 0,013)	—	27,2 (< 0,013)	25,0 (0,025)	—	—
56	5,7 (0,02)	—	—	—	5,5 (0,02)	5,6 (0,033)	—	9,7 (0,05)	14,2 (0,013)	20,2 (0,013)	—
23	17,4 (0,075)	—	—	19,0 (0,075)	20,0 (0,1)	26,0 (0,1)	—	28,8 (2,0)	31,4 (0,05)	—	39,6 (0,063)
54[1]	21,1 (0,075)	21,2 (0,06)	24,1 (0,042)	26,9 (0,033)	27,2 (0,025)	— (0,017)	26,8 (0,05)	26,0 (0,025)	20,5 (0,02)	—	—

[1] 3 Stunden Durchflutung.

war zunächst an die Muskulatur zu denken, deren Histamingehalt beim Hund mit 7 γ/g angegeben wird [Gaddum (4)].

Die von uns gefundenen Ausgangshistaminwerte im Muskel des Hundes zeigten große Schwankungen, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht.

Tabelle 5. Versuche mit Beindurchflutung beim Hund. Dauer der Durchflutung $^1/_2$ Stunde. Histamingehalt in γ/g Muskel.

Versuch Nr.	Vor K. W.	Nach K. W. sofort	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	5 Std.	7 Std.	8 Std.
56	1,17	—	1,21	1,37	—	2,42	2,97	—	3,2
43	0,81	1,58	0,829	1,11	—	0,77	—	2,04	—
	(1,05)[1]	(1,55)	(0,915)	(1,07)	—	—	—	(1,51)	—
41	2,58	1,45	1,08	1,03	—	1,02	—	3,16	—
40	4,07	1,57	1,46	1,95	—	10,91	—	—	—
39	10,14	2,33	1,36	0,37	0,884	0,846	—	—	—
				Kontrollversuch:					
42	3,03	1,25	1,29	1,21	2,36				

[1] Kontrollentnahme aus dem anderen Bein.

Eine direkte Gesetzmäßigkeit, die man dem Einfluß der Kurzwellen zuschreiben könnte, ist wohl kaum feststellbar. Man kann vielleicht nur aus den Versuchen herauslesen, daß bei hohen Ausgangshistaminwerten in den ersten Stunden eine Verminderung des Histamingehalts auftritt, während es bei niedrigen Ausgangswerten eher zu einer Erhöhung hauptsächlich zwischen der vierten und achten Stunde kommt. Offenbar ist aber schon allein die Entnahme von Muskelstückchen durch die Schädigung des Gewebes von Einfluß auf seinen Histamingehalt, denn ein Kontrollversuch mit Entnahme von Muskelstückchen am nicht bestrahlten anderen Hinterbein (Nr. 43, die in Klammern angeführten Werte) und auch ein weiterer Kontrollversuch mit Entnahme von Muskelstückchen ohne Kurzwellendurchflutung (Nr. 42) ließen ebenfalls Schwankungen im Histamingehalt erkennen, wenn sie auch verhältnismäßig geringen Grades waren.

Da die Versuche mit Histaminbestimmung in der Muskulatur aus technischen Gründen durch unvermeidbare Nachblutungen und Gewebsschädigung kein eindeutig verwertbares Material ergaben, wurde in weiteren Versuchen die Änderung im Histamingehalt der Haut geprüft. Die Bestimmungen erfolgten nach der von Riesser (8) angegebenen Methode. Um eine möglichst gute Extraktion des Histamins aus der Haut zu erreichen, wurden die Hautstückchen sofort nach der Entnahme mit Kohlensäureschnee durchgefroren, auf dem Mikrotom geschnitten und in Trichloressigsäure gebracht. Die Resultate finden sich in der folgenden Tabelle:

Tabelle 6. Versuche mit Thoraxdurchflutung beim Hund. Dauer der Durchflutung $^1/_2$ Stunde. Histamingehalt im Blute in γ/ccm (in der Haut in γ/g).

Versuch Nr.	Vor K. W.	Nach K. W.				
		1 Std.	2 Std.	4 Std.	7 Std.	10 Std.
80	0,0175 (1,31)	0,014 (—)	0,067 (1,51)	0,012 (1,02)	0,012 (1,02)	0,012 (0,9)
78	0,025 (0,24)	0,025 (—)	0,025 (< 0,05)	0,022 (0,4)	0,02 (0,57)	0,025 (1,12)
79	< 0,01 (0,29)	< 0,01 (—)	< 0,01 (0,445)	< 0,01 (0,422)	< 0,01 (0,60)	< 0,01 (1,14)
55	< 0,0125 (0,18)	< 0,005 (3,09)	< 0,005 (2,62)	0,005 (4,03)	0,025 (1,4)	(—) (—)
56	0,02 (3,3)	0,02 (2,53)	0,033 (2,27)	0,05 (—)	0,0125 (5,34)	0,0125 (3,0)
77	0,0375 (0,95)	0,0375 (—)	0,031 (0,50)	0,025 (0,32)		

Über den Histamingehalt der Haut des Hundes konnten wir in der Literatur keine Angaben finden. Die von uns gefundenen Ausgangswerte schwanken sehr erheblich, sie liegen zwischen 0,24 und 3,3 γ pro g auf frische Haut bezogen. Ob diese starken Streuungen mit Eigentümlichkeiten der Rasse zusammenhängen, können wir nicht sagen, zumal aus naheliegenden Gründen als Versuchshunde die verschiedensten Rassekreuzungen vorlagen. Bei Kaninchen fanden wir (s. später) sehr viel geringere Streuung.

Eine deutliche Gesetzmäßigkeit zwischen dem gleichzeitig mitbestimmten Histamingehalt des Blutes und dem der Haut ist aus der Tabelle nicht zu erkennen. In den Versuchen Nr. 78, 79 und 55, in denen der Bluthistaminwert sich praktisch nicht änderte, war ein Anstieg der Hauthistaminwerte wohl deutlich, in dem einen Versuch (Nr. 55) sogar sehr stark, wobei gleichzeitig der Bluthistaminwert erheblich abfiel. In anderen Versuchen war jedoch praktisch keine Änderung im Histamingehalt der Haut festzustellen. Es ist aber auch hier wieder möglich, daß, zumal bei nur kurzem, aber dafür intensivem Anstieg des Bluthistamins, wie wir es ja in einer Reihe von Versuchen beobachtet haben, das Maximum gerade in die Zeit fiel, in der keine Blutentnahme erfolgte. Auch die Änderungen im Histamingehalt der Haut sind aus den gleichen Gründen möglicherweise nicht erfaßt worden.

Fassen wir die bisherigen Versuche am Hund zusammen, so ergibt sich, daß der durch die Kurzwellendurchflutung gesetzte Reiz auf das Gewebe zu einer Vermehrung des Histamins im Blute führt, wobei das Histamin jedenfalls nicht aus den Leukocyten, vielmehr aus dem Gewebe stammt.

Wie groß sind nun diese Histaminmengen? Das Histamin wird bekanntlich im Organismus sehr schnell entgiftet [Feldberg und Schilf (9)]. Nur so ist es möglich, daß man einem Tier langsam sehr große Histaminmengen infundieren kann, ohne daß es zu starken Reaktionen käme. Wir haben versucht, uns ein ungefähres Bild von der Menge des Histamins dadurch zu machen, daß wir Dauerinfusionen mit einer Dosierung zwischen 1 und 5 γ/kg/Min. durchführten. In einem Versuch mit der niedrigsten Dosierung war 10 Minuten nach Beginn der Infusion ein Anstieg gegenüber dem Ausgangswert von 0,02 auf 0,067 γ erreicht; nach 60 Minuten fanden wir im ccm Blut 0,04 γ und nach 120 Minuten 0,033 γ. Bei einem anderen Hund änderte sich der Histaminspiegel im Blute während einer zweistündigen Dauerinfusion von 2 γ/kg/Min. praktisch nicht. Wurde die Menge von 5 γ als Dauerinfusion während zweier Stunden gegeben, so fanden wir einen Anstieg von 0,022 γ/ccm auf den Wert von 0,075 γ 30 bzw. 120 Minuten nach Beginn der Infusion.

Bei intravenöser Injektion einer Dosis von 0,1 mg/kg war in vier Versuchen nach 5 Minuten der Ausgangswert des Bluthistamins wieder erreicht. Eine Erhöhung des Histaminspiegels war praktisch nur in den sofort der Injektion folgenden ersten Minuten festzustellen. Sofort nach der Injektion (Bestimmung im arteriellen Blute) wurden bei einem Tier 0,6 γ, bei einem anderen sogar 7 γ im ccm Blute gefunden (die Ausgangswerte lagen bei 0,1 γ/ccm), bei einem dritten Tier war die Steigerung nur sehr gering, von 0,066 γ auf 0,08 γ sofort nach der Injektion.

Daraus ist zu schließen, daß das vom Gewebe ins Blut abgegebene Histamin außerordentlich schnell wieder aus dem Blute verschwindet, und zwar nicht etwa in die Leukocyten, denn sonst hätte es sich im Gesamtblute nachweisen lassen müssen, das wir ja zu unseren Histaminbestimmungen verwandten. Weiter scheint aber die individuelle Entgiftungsfähigkeit in sehr weiten Grenzen zu schwanken, sonst hätten nicht diese starken Streuungen bei der Bestimmung des Histamins im Blute sofort nach der Injektion auftreten können.

Größenordnungsmäßig scheint, nach der Dauerinfusion zu schließen, die Histaminausschwemmung aus dem Gewebe mehrere γ pro kg und Minute zu betragen. Daß diese nicht unbeträchtlichen Histaminmengen keinen Einfluß auf den Blutdruck ausüben, liegt an der sehr schnellen Entgiftung dieser Substanz.

Vergleichsweise haben wir auch einige wenige Versuche mit Bestimmung des Bluthistamins nach Kurzwellendurchflutung am Kaninchen angestellt. Da wir aber praktisch keine Ausschläge erhielten, haben wir von weiteren Versuchen abgesehen. Auch bei der Untersuchung der Haut auf ihren Histamingehalt konnten wir nur geringe Änderungen feststellen*.

* Kontrollversuche über den Histamingehalt der Haut ohne Kurzwellenbehandlung ergaben nur geringe Schwankungen, die Werte lagen zwischen 2,0 und 2,48 γ/g Haut.

Immerhin war eine deutliche Verminderung ihres Histamingehalts 2 Stunden nach der Durchflutung (die Haut wurde natürlich aus dem durchfluteten Bezirk entnommen) festzustellen. Weitere Bestimmungen 4 und 7 Stunden nach der Durchflutung ergaben etwas erhöhte Werte, die Hautstückchen 10, 30 und 48 Stunden nach Kurzwellen zeigten wieder den Ausgangswert.

Ähnliches ergab sich bei Untersuchung der Haut der Katze. Der Ausgangswert lag bei dem einen Tier bei 14,5 γ, bei dem anderen bei 32 γ pro g Haut. Das erste Tier zeigte praktisch keine Veränderungen, wenn man das Absinken auf den Wert von 11,6 γ 2 Stunden nach der Durchflutung als unwesentlich außer acht läßt. Bei der anderen Katze mit dem höheren Ausgangswert von 32 γ waren eine Stunde nach der Durchflutung nur noch 10 γ/g Haut zu finden. Eine Stunde später war aber auch hier der Ausgangswert praktisch wieder erreicht, und auch nach weiteren 4 Stunden wurde der gleiche Wert gefunden.

Zu einer genauen Beurteilung reichen natürlich diese wenigen ergänzenden Versuche an Katze und Kaninchen nicht aus. Es dürfte aber doch aus ihnen hervorgehen, daß auch bei diesen Tieren durch die Kurzwellen eine Ausschwemmung von Histamin aus der Haut in das Blut erfolgt.

Versuche mit Diathermie.

Ebenso wie die Kurzwellen bewirkt auch die Diathermie eine starke Erwärmung des Gewebes, wenn auch dieselbe mehr die oberen Schichten betrifft. Es war daher zu prüfen, ob die gleichen oder ähnliche Änderungen im Histamingehalt des Blutes auch nach Diathermie auftreten würden. Die entsprechenden Versuche wurden mit einem Diathermieapparat „Cutor" der Firma Sanitas, Berlin, in der Hautklinik durchgeführt, der wir dafür sehr zu Dank verpflichtet sind. Die Elektroden wurden $^1/_2$ Stunde lang in der Gegend des unteren Thorax am Hund angelegt. Das Blut wurde wie üblich zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Behandlung aus der Femoralvene entnommen.

Die Versuche Nr. 7, 8 und 9 der Tabelle ergeben, daß auch die Diathermie die Bluthistaminwerte beeinflußt. Es kommt auch hier zu einem Maximum, das aber ebenso wie bei den Kurzwellenversuchen nicht ganz gleichmäßig liegt. Im ersten Versuch (Nr. 7) war die Hauptsteigerung nach 4 Stunden erreicht, in den beiden anderen nach 7 Stunden. Bei Versuch Nr. 8 war auch nach 24 Stunden noch der gleiche Höchstwert festzustellen, während im Versuch Nr. 9 zu diesem Zeitpunkt nurmehr eine geringe Erhöhung über den Ausgangswert nachzuweisen war.

Auch beim Kaninchen war in einem Falle die Steigerung des Bluthistaminwertes sehr deutlich, er betrug 2 Stunden nach der Behandlung 20 γ gegenüber dem Ausgangswert von 2 γ; auch nach 7 Stunden war die Erhöhung noch nicht abgeklungen, denn es fanden sich immer noch 6 γ im ccm. Ein anderes Kaninchen (Versuch Nr. 74) ließ im Gegensatz

Tabelle 7. Versuche mit Diathermie beim Hund und Kaninchen*. Diathermie $^1/_2$ Stunde, Platten am Thorax angelegt. Histamingehalt im Blute in γ/ccm (in der Haut in γ/g).

Versuch Nr.	Vor Diathermie	Nach Diathermie						
		sofort	1 Std.	2 Std.	4 Std.	7 Std.	24 Std.	48 Std.
7	0,15	0,134	—	0,08	0,25	0,06	0,134	—
8	0,10	0,10	—	0,08	0,146	0,20	0,20	—
9	0,06	0,80	—	0,60	0,06	0,20	0,10	—
68*	2,0	—	2,0	20,0	—	6,0	—	—
74*	1,4	—	1,4	1,4	1,4	1,4	—	—
	(0,8)	—	—	(0,39)	(0,46)	(0,72)	—	—
64*	—	—	—	—	—	—	—	—
	(1,4)	—	—	(1,8)	(2,1)	(2,6)	(1,22)	(1,3)
65*	—	—	—	—	—	—	—	—
	(0,6)	—	—	(1,67)	(1,42)	(0,43)	(0,82)	(0,69)

hierzu jede Veränderung des Histamingehalts im Blute vermissen, doch besteht auch hier wieder die Möglichkeit, daß dieses Tier mit einer schnellen Ausschwemmung des Histamins aus dem Gewebe reagiert hat und daß diese Veränderung nicht erfaßt wurde. Dafür könnte sprechen, daß, wie die eingeklammerten Zahlen der Hauthistaminwerte zeigen, in der Zeit von 2 und 4 Stunden nach der Diathermie der Histamingehalt der Haut, wenn auch nicht sehr stark, so doch deutlich herabgesetzt war.

In zwei anderen Versuchen (Nr. 64 und 65) war nur der Hauthistaminwert bestimmt worden. Er wies in beiden Fällen einige Stunden nach der Diathermie eine gewisse Erhöhung auf. Dies könnte dafür sprechen, daß — vorausgesetzt, daß bei diesen Tieren überhaupt Histamin vermehrt im Blut aufgetreten wäre, was aber beim Kaninchen nach unseren Versuchen nicht immer der Fall zu sein braucht — durch den Reiz der Diathermie nicht eine Ausschwemmung, sondern eine Neubildung von Histamin in der Haut ausgelöst worden wäre.

Versuche mit Fango.

Um auch noch den Einfluß einer reinen Wärmezufuhr von außen auf den Histamingehalt von Blut und Haut zu untersuchen, haben wir einige Versuche mit Fangopackungen vorgenommen. Eine fertige Fangopackung in Form von „Fapack, Hartmann“ wurde wie üblich in heißem Wasser auf 40—41° erwärmt, dann ausgewrungen, auf die enthaarte Haut aufgelegt und $^1/_2$ Stunde belassen. Nach Abnahme der Kompresse war die Haut deutlich vermehrt durchblutet und fühlte sich warm an.

In zwei von drei Versuchen (Nr. 70 und 82) am Hund fanden wir, wie aus der Tabelle hervorgeht, einen leichten Anstieg des Histamingehalts in der Haut, dessen Maximum in die Zeit 7—10 Stunden nach dem Auflegen der Packung lag und einer Steigerung der Histaminwerte im Blute parallel ging. Im dritten Versuch trat eine Verminderung ein.

Tabelle 8. Fango-Versuche beim Hund und Kaninchen*.
Dauer der Fangopackung $^1/_2$ Stunde. Histamin in der Haut in γ/g (im Blute in γ/ccm).

Versuch Nr.	Vor Fango	Nach Fango							
		sofort	1 Std.	2 Std.	4 Std.	7 Std.	10 Std.	24 Std.	48 Std.
70	0,188	—	—	0,202	0,208	0,311	0,625	0,222	—
	(0,013)		(0,013)	(0,013)	(0,013)	(0,025)	(0,033)	(0,0075)	—
81	2,51	—	—	1,27	1,94	2,21	1,73	—	—
82	1,54	—	—	—	2,37	2,42	1,83	—	—
	(0,02)	—	(0,02)	(0,02)	(0,02)	(0,02)	(0,02)	—	—
62*	2,0	1,67	—	1,7	1,4	7,7	7,9	7,0	7,1
63*	1,8	—	—	1,9	2,07	2,1	1,7	1,75	—
66*	1,06	—	—	1,62	4,62	2,35	2,1	2,5	2,1

Auch am Kaninchen beobachteten wir in zwei Versuchen einen nicht unerheblichen Anstieg des Histamingehalts in der Haut (Versuch Nr. 62 und 66). In einem dritten Versuch (Nr. 63) war die Erhöhung nur unwesentlich.

Bei einer halbstündigen Bestrahlung mit der Solluxlampe (Versuchstier Hund) blieben die Bluthistaminwerte praktisch unbeeinflußt.

Tabelle 9. Versuche mit Senföl beim Kaninchen.
Dauer der Senföleinwirkung $^1/_4$ Stunde. Histamingehalt in der Haut in γ/g.

Versuch Nr.	Vor Senföl	Nach Senföl						
		sofort	3 Std.	6 Std.	10 Std.	24 Std.	36 Std.	48 Std.
59	2,8	—	1,0	1,0	1,2	0,7	0,78	2,9
60	1,6	—	0,57	0,78	0,67	1,04	1,09	1,01
52	2,81	—	3,14	2,46	1,35	—	—	—
57[1]	0,471	0,437	0,559	0,428	0,438	0,45	0,535	—
58[2]	1,11	0,803	0,18	0,205	0,094	†		

[1] Es wurde ein Senfpflaster drei Stunden aufgelegt. — [2] Senföleinwirkung eine Stunde, starke Rötung und Blasenbildung.

Um auch eine andere Form der Hyperämie zu vergleichen, haben wir in fünf Versuchen am Kaninchen den Einfluß von Senföl auf den Histamingehalt der Haut untersucht.

Wir verwandten hierzu Senfölpflaster, das nach den beiliegenden Vorschriften etwas angefeuchtet und dann auf die enthaarte Körperstelle am Rücken $^1/_4$ Stunde aufgelegt wurde. In einem Versuch ließen wir das Senföl 1 Stunde einwirken, dabei kam es aber zu schweren Zerstörungen der Haut, der das Tier nach 24 Stunden erlag. In diesem letzteren Falle nahm der Histamingehalt der Haut stark ab, denn es fand sich nach 10 Stunden nur noch ungefähr $^1/_{10}$ des Ausgangswertes. In den anderen Versuchen, in denen nur eine Hyperämie durch das Senföl hervorgerufen war, war ebenfalls eine Abnahme des Histamingehalts zu verzeichnen,

doch war das Ausmaß stark schwankend. Trockengewichtsbestimmungen ergaben, daß nicht etwa eine Vermehrung des Wassergehalts der Haut (leichte Ödembildung) eine Abnahme des Histamins vortäuschte.

Zusammenfassung.

Kurzwellendurchflutung bewirkt bei Hund, Katze und Kaninchen eine Erhöhung des Histamingehalts im Blute, wobei das Histamin aus dem Gewebe stammt. Die Reaktion der einzelnen Tiere bezüglich Schnelligkeit, Intensität und Dauer dieser Reaktion ist sehr verschieden. Auch andere Formen der Wärmezufuhr, wie Diathermie und Fango, rufen ähnliche Änderungen des Histamingehalts von Blut und Gewebe hervor.

Literatur.

1) Schliephake, E.: Kurzwellentherapie, III. Aufl. Jena, Verlag Fischer, 1936. — 2) Kowarschik, J.: Münch. med. Wschr. **1935**, S. 1158 und Klin. Wschr. **1938**, S. 401. — 3) Dale, H. H.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **1937**, S. 13. — 4) Gaddum, J. H.: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe. Leipzig, Verlag Thieme, 1936. — 5) Code, C. F.: J. Physiol. (Brit.) **89**, 257 (1937). — 6) Code, C. F.: Ebenda **90**, 349 (1937). — 7) v. Oettingen u. Schultze-Rhonhof: Zbl. Gynäk. **1930**, S. 2245. — 8) Riesser, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 1 (1937). — 9) Feldberg, W., u. E. Schilf: Histamin. Berlin, Verlag Jul. Springer, 1930.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: O. Gros.)

Über die Beeinflussung des Histamingehalts der Haut durch Reizstoffe*.

Von

Hans T. A. Haas.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Dezember 1940.)

Die Tatsache, daß beinahe alle Arten von Reizstoffen bei ihrem Einwirken auf die unverletzte Haut im Prinzip die gleiche komplexe Wirkung in Form von Erythem, Hyperämie und lokalem Ödem hervorrufen, war grundlegend für die Erkenntnis, daß diese geradezu auffallende Einförmigkeit der Reaktion auf mechanische, thermische, photochemische und chemische Reize ursächlich durch einen gemeinsamen Faktor, der sich zwischen Reiz und Reizerfolg schiebt, bedingt ist. Bereits Ebbecke[1] vermutete, daß die Erweiterung der Hautgefäße nicht zustande kommt durch eine direkte Einwirkung der Reize auf die Gefäße, sondern über eine Beeinflussung des Zellstoffwechsels und das Freiwerden von Substanzen, die ihrerseits in den Ablauf des lokalen Geschehens eingreifen. Erst Lewis[2] entwickelte aber, gestützt auf umfassende experimentelle Untersuchungen und einwandfreie Belege, die Vorstellung, daß jede Hautreizung, die zu einem Erythem führt, durch eine Freisetzung von histaminähnlichen Körpern in der Haut wirkt.

Mit gewissen Einschränkungen gilt diese Ansicht fast allgemein als anerkannt. Zumindest rechnet man bei lokaler Gewebsreizung unter einer Reihe verschiedenartiger Bedingungen mit einer Entstehung von Histamin. Zipf[3] weist allerdings in erster Linie den adenosinartigen Stoffen jene Bedeutung zu, die von den übrigen Autoren dem Histamin zugemessen wird. Seiner Meinung zufolge sind die adenosinartigen Stoffe die gefäßerweiternden Stoffwechselprodukte, die die vasomotorischen Regulationsvorgänge im wesentlichen vermitteln, und die bei der reaktiven Hyperämie, der Wärmehyperämie, bei experimentell gesetzten Entzündungen und Verbrennungen vermehrt im Gewebe anzutreffen sind.

In Abänderung der Darstellung Lewis vertreten im übrigen Feldberg und Schilf[4] die Auffassung, daß das Freiwerden von histaminähnlichen Substanzen vorwiegend einen Verteidigungsmechanismus der

* Als Habilationsschrift eingereicht bei der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig im Juli 1940.

[1] Ebbeke, U.: Pflügers Arch. **169**, 1 (1917). — [2] Lewis, T.: The blood vessels of the hum. skin and their responses. London 1927. — [3] Zipf, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 60 (1932). — [4] Feldberg, W., u. E. Schilf: Histamin. Berlin 1930.

Haut auf schwächere Reize, die nur zur Zellreizung führen, darstellt. Bei starken Reizen, die mit einer Schädigung oder einem Zerfall der Zellen einhergehen, und auch bei langanhaltenden Reaktionen der Haut auf Ultraviolett- und Röntgenstrahlen sind dagegen vermutlich außerdem Zellzerfallsprodukte und andere Stoffe beteiligt. Nach Krogh[5] handelt es sich bei diesen letzteren um nicht diffundierende, gefäßaktive Stoffe, die von ihm als H-Kolloide bezeichnet wurden. Dale und Gaddum[6] betonen schließlich, daß neben einer Freisetzung von Histamin als Folge einer Verletzung der Gewebszellen für bestimmte, direkt auf die Gefäße gerichtete Wirkungen auch Acetylcholin als Überträger in Frage kommt.

Eine endgültige Entscheidung dieser Fragen ist an den Nachweis geknüpft, daß der Gehalt der Haut an Histamin bzw. an den anderen genannten Stoffen unter dem Einfluß von Reizstoffen tatsächlich einer Änderung unterliegt. Aus diesem Grunde ist es nicht verwunderlich, daß man sich, wenn auch mit wechselndem Erfolge, bemüht hat, die Beweisführung Lewis, in der dieses letzte entscheidende Glied fehlt, in dieser Richtung zu vervollständigen. Beim Histamin war die erste Vorbedingung für diesen Nachweis durch die Feststellung gegeben, daß in der Haut dieser Stoff bereits normalerweise in größerem Umfange vorhanden ist, wie Harris und verschiedene andere Untersucher[7–11] in biologischen Versuchen zeigen konnten. Die Isolierung von Histamin aus Hautextrakten mittels chemischer Methoden steht allerdings noch aus.

Den Versuch, direkt im Tierexperiment Unterlagen dafür zu gewinnen, daß die auf die Haut einwirkenden Reizstoffe auch imstande sind, Histamin in Freiheit zu setzen, unternahm erstmalig Ellinger[8], wenn man davon absieht, daß Lewis und Harmer[12] bei mechanischer Reizung der Haut eines Patienten mit Urticaria factitia histaminähnliche Allgemeinreaktionen erzielten. Diese Beobachtung wurde übrigens später von Kalk[13] unter Benutzung der Magensekretion als Test für das freiwerdende Histamin bestätigt. Ausgehend von unveröffentlichten Arbeiten Trendelenburgs beschäftigten sich die Untersuchungen Ellingers mit dem Einfluß des ultravioletten Lichtes auf den Histamingehalt der Haut. Extraktionsversuche an der Haut unbestrahlter Meerschweinchen zeigten bereits bei ihrer Auswertung am Meerschweinchendarm und am Blutdruck der Katze einen erheblichen Gehalt an histaminähnlicher Substanz. Nach Bestrahlung fand sich bei insgesamt 14 Versuchen dreimal sicher, zweimal fraglich eine Wirkungsüberlegenheit der bestrahlten über die nicht bestrahlte

[5] Krogh, A.: Anatomy and Physiol. of Capillaries. New Haven 1924. — [6] Dale, H. H., u. J. H. Gaddum: J. Physiol. (Brit.) **70**, 109 (1930). — [7] Harris, K. E.: Heart **14**, 161 (1927). — [8] Ellinger, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **136**, 129 (1928). — [9] Hosoya, K., E. Schilf u. K. Watanabe: Derm. Wschr. **91**, 13, 82 (1930). — [10] Tarras-Wallberg, B.: Klin. Wschr. **1937**, S. 958. [11] Martin, J., u. A. Valenta: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 305 (1939). — [12] Lewis, T., u. J. M. Harmer: J. Physiol. (Brit.) **62**, Proced. XI (1926). — [13] Kalk, H.: Klin. Wschr. **1929**, S. 64.

Hautpartie. Bei den restlichen Tieren wurde Wirkungsgleichheit in beiden Hautpartien gefunden. Insgesamt konnte somit eine Vermehrung des Histamins nicht bewiesen werden. Analoge Versuche an Schweinen[14] führten ebenfalls nicht zu einwandfrei positiven Ergebnissen.

Die in der Folge mit verschiedenen Reizstoffen durchgeführten Untersuchungen erbrachten zum Teil voneinander abweichende Resultate. Für ihre Beurteilung ist insbesondere zu bedenken, daß die Identifizierung des Histamins in diesen Arbeiten nicht immer mit gleichartiger Methodik und z. T. sogar nicht in absolut überzeugender Weise vorgenommen wurde. Nach Kawaguchi[15] ist in Extrakten der Meerschweinchenhaut eine Substanz (Histamin) enthalten, die befähigt ist, am isolierten Darm mäßige Kontraktionen auszulösen. Nach langdauernder, intensiver Bestrahlung mit natürlichem Sonnenlicht ist diese Substanz in verstärktem Maße in der bestrahlten Haut anzutreffen, nicht immer nach Bestrahlung mit ultraviolettem Licht, während Röntgenstrahlen überhaupt ohne Einfluß zu sein schienen. Auch Tarras-Wahlberg[10] erhielt bei der Bestimmung des Histamingehalts der Kaninchenhaut mittels biologischer Titration der Extrakte am Meerschweinchendarm im Bereich des dem ultravioletten Lichte ausgesetzten Hautbezirks an den beiden ersten Tagen nach der Bestrahlung erhöhte Histaminwerte. Im Verlauf des 3. und 4. Tages erfolgte ein Absinken der Werte unter die Norm. In Versuchen an der Haut von Katzen trat dagegen nach Ultraviolettlicht schon nach Ablauf einiger Stunden eine Senkung des Histamingehalts ein, die mehrere Tage bestehen blieb. Das 5 Minuten nach der Bestrahlung beobachtete kurze und geringe Ansteigen der Histaminkurve ist infolge der kleinen Versuchsreihe nicht als gesichertes Untersuchungsergebnis zu werten. Isobe[16] schließlich, der ebenfalls mit Ultraviolettbestrahlung an Kaninchen arbeitete, konnte gleichfalls eine deutliche Zunahme des Histamingehalts der gereizten Haut nachweisen.

Den Versuchen mit Ultraviolettbestrahlung der Haut stellen sich weitere Untersuchungsbefunde mit thermischer Reizung der Haut an die Seite. Nach Harris[7] führt die Verbrühung der Haut bei Katzen nicht unmittelbar zu einer Änderung des Histamingehalts. Erst 12 Stunden nach der Verbrennung und mit der Entwicklung des Ödems ließ sich eine deutliche Abnahme der Histaminmenge um rund 50% feststellen. Demgegenüber konnte Loos[17] zeigen, daß 3—6 Stunden nach der Verbrühung die Ohren von Kaninchen die achtfache Menge an Histamin enthielten. Dazu kommen noch die Befunde Barsoums und Gaddums[18], die im Blute 5 Tage nach Verbrennungen stärkeren Grades beim Menschen einen Anstieg des Histamins konstatieren konnten. Entsprechend fanden

[14] Ellinger, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **149**, 343 (1930). — [15] Kawaguchi, S.: Biochem. Z. **221**, 232 (1930). — [16] Isobe, T.: Jap. J. Derm. **39**, 272 (1936). — [17] Loos, H. O.: Arch. Derm. **164**, 199 (1931). — [18] Barsoum, G. S., u. J. H. Gaddum: Clin. Sci. **2**, 357 (1936).

Code und Macdonald[19] bei einer Frau mit schweren Brandwunden am ersten Tage nach dem Unfall noch einen normalen Bluthistamingehalt. In den folgenden Tagen erfolgte eine kontinuierliche Steigerung, die erst allmählich wieder zur Norm absank. Nach Barsoum und Gaddum verursachen kleinere Verletzungen geringere Ausschläge der Histaminschwankungen. Es scheint demnach eine direkte Beziehung zwischen dem Umfange der Verbrennung und der Größe und Erhöhung des Bluthistamingehalts zu bestehen.

Auch das kältegeschädigte Gewebe reagiert anscheinend mit einer Bildung von Histamin, wie die Versuche von Loos[20] lehren, der im Frostblasenserum die Anwesenheit histaminähnlicher Substanzen nachweisen konnte. Weiterhin bewirkt nach den Untersuchungen von Hildebrandt[21] der thermische Effekt der Kurzwellen eine Steigerung des Histamingehalts im Blute beim Hund. Die Reaktion beginnt nach etwa 1 Stunde, sie erreicht ihr Maximum nach 2—3 Stunden, um im Laufe der nächsten Stunden zur Norm zurückzukehren. Bei einigen Tieren trat die Histaminsteigerung unter dem Einfluß der Kurzwellen ohne Latenzzeit ein. Versuche mit Diathermie, deren Wirkung mehr auf die oberflächlichen Schichten der Haut und des Unterhautzellgewebes beschränkt bleibt, ergaben fast das gleiche Bild, während die Bestrahlung mit der Solluxlampe sich als wirkungslos in Hinsicht auf das Verhalten des Bluthistamins erwies. Bei der Bestimmung des Hauthistamingehalts von Katze und Kaninchen fand sich nach Kurzwelleneinwirkung ein erheblicher Abfall, dessen Maximum nach 1—2 Stunden erreicht wurde. Demgegenüber zeigte die Haut 2—6 Stunden nach der Einwirkung von Diathermie einen kurzdauernden Anstieg des Histamins. In gleicher Weise führte auch die Behandlung mit Fangopackungen zu einer Steigerung der Histaminwerte der Haut. Das Maximum des Anstieges, das nach 4—5 Stunden erreicht wurde, betrug in diesen Versuchen bis zu 500% der Ausgangswerte.

Diesen relativ zahlreichen Untersuchungen über das Verhalten des Histamingehalts der Haut nach thermischen und photochemischen Reizen stehen nur einige wenige Versuche gegenüber, die sich speziell mit der Beeinflussung der Haut und ihres Histamingehalts unter der Einwirkung lokal angreifender chemischer Reizstoffe beschäftigen. Im Vergleich zum Verhalten der Haut nach Diathermie, Fangopackungen und Kurzwellenbestrahlungen berichtete Hildebrandt auch über eine Änderung des Histamingehalts der Haut nach Behandlung mit Senföl. Dabei ergab sich eine erhebliche Abnahme, deren Maximum 2—24 Stunden nach der Aufbringung des Senföls lag. Die Erniedrigung des Hauthistamins blieb bis zu 48 Stunden bestehen. Zu dem Zeitpunkt des Eintritts der Histamin-

[19] Code, C. F., u. A. D. Macdonald: Lancet **233**, 730 (1937). — [20] Loos, H. O.: Derm. Wschr. **109**, 1017 (1939). — [21] Hildebrandt; F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 197 (1938); Klin. Wschr. **1940**, S. 270.

abnahme ist allerdings, wie die Bestimmung des Trockengewichts ergab, der Wassergehalt der Haut bei den Senfölversuchen deutlich erhöht.

Loos[17] fand dagegen in Extrakten von Kaninchenohren 36 Stunden nach der Einwirkung von Canthariden pflastern in vermehrtem Umfange einen Stoff mit histaminartiger Wirkung. Die Zunahme der Wirkstärke betrug für die Extrakte der behandelten Ohren gegenüber den Auszügen von normalen Ohren etwa das 40fache. In gleicher Weise berichtete auch Isobe[16] über einen Anstieg der histaminähnlichen Substanzen bei Kaninchen im Bereich entzündeter Hautbezirke nach Behandlung mit Japanlack und Gingkol. Dazu kommen weiterhin die Befunde von Bartosch[22], der in Parallele zu Versuchen an Meerschweinchenlungen beim Aufträufeln von Hexan, Heptan, Oktan, sowie Benzol, Toluol und Xylol auf Kaninchenohren eine Mobilisation von Histamin erzielte. Auch beim Eintauchen der Ohren in heißes Wasser wurde die vorher unwirksame Durchströmungsflüssigkeit biologisch wirksam. Gollwitzer-Meier und Bingel[23] fanden schließlich im Blaseninhalt entzündlicher Hautblasen, die durch Auflegen von Canthariden pflastern erzeugt wurden, 15—20 Stunden nach der Behandlung in der Mehrzahl der Fälle eine histaminähnliche Substanz, die an der atropinisierten Katze Blutdrucksenkung und am atropinisierten Meerschweinchendarm Kontraktionen auslöste. Die Austestung gegen bekannte Histaminlösungen ergab Werte von 0,6—1,2 γ. Ein Histamingehalt etwa gleicher Größenordnung wurde übrigens auch von Harris[7] in Hautblasen nach Verbrennungen nachgewiesen.

Diese bisher vorliegenden Ergebnisse, bei denen speziell eine Änderung des Histamingehalts der Haut als Folge der Einwirkung chemischer Agentien beobachtet werden konnte, stellen Einzelbefunde dar, aus denen keineswegs ersichtlich ist, ob bei einer Gewebsschädigung oder Reizung der Haut durch pharmakologisch wirksame Stoffe in der Regel Histamin frei wird. Nach der Ansicht von Lewis[2] ist aber bei zahlreichen Reizstoffen und entzündungserregenden Substanzen, wie Säuren, Alkalien, Formaldehyd, Silbernitrat, Kupfersulfat, Morphium, Atropin, Chloroform, Senföl usw. auf Grund des prinzipiell gleichartigen Ablaufs der auf den Reiz hin auftretenden Reaktion mit einem Freiwerden eines histaminähnlichen Faktors zu rechnen. Diese Annahme, daß Histamin bei der Mehrzahl der chemischen Reizstoffe als Mittler der akuten Wirkung auftritt, verdient um so mehr Beachtung, als bekanntlich der Einfluß dieser Stoffe auf die Haut und ihre Elemente in anderer Beziehung sich z. T. nicht völlig gleichartig zu äußern pflegt. Einige chemische Reizstoffe, wie z. B. Cantharidin, bewirken im Gegensatz zu den meisten anderen eine langsam ablaufende Reaktion der Haut, die mehr dem Effekt von Lichtstrahlen gleicht. Feldberg und Schilf[4] betonen daher, daß bei diesen Substanzen eventuell mit einem

---

[22] Bartosch, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 176 (1936). — [23] Gollwitzer-Meier, Kl., u. A. Bingel: Ebenda **173**, 173 (1933).

gleichen Mechanismus wie bei der Lichtreaktion zu rechnen ist, bei der nach ihrer Meinung außer histaminähnlichen Stoffen auch H-Kolloide frei werden. Derartige und andere Unterschiede im Ablauf des Wirkungsbildes haben jedenfalls zur Aufstellung einiger, allerdings nicht absolut scharf voneinander gesonderter Gruppen innerhalb der entzündungserregenden Stoffe geführt. Differenzen im Angriffspunkt an den einzelnen Gewebsbestandteilen, wie eine besondere Affektion der nervösen Elemente, der Gefäße oder des Protoplasmas bzw. die Beeinflussung dieser Gewebsanteile in wechselnder Kombination boten weitere Möglichkeiten für eine Abgrenzung einzelner Untergruppen innerhalb der Gesamtheit der lokal angreifenden Reizstoffe. Es sollen nur die beiden wichtigsten Einteilungsprinzipien hier genannt werden. In Anlehnung an ältere Gruppierungsversuche findet sich bei Meyer-Gottlieb[24] eine Aufteilung in 3 Gruppen angegeben: 1. Schmerzerzeugende und rötende Hautreizmittel: Rubefacientia. 2. Mittel, die durch Zellnekrose Blasen ziehen und Eiterung erzeugen: Vesicantia und Suppurantia. 3. Allgemein zelltötende Gifte: ätzende (Caustica) und nekrotisierende Gifte.

Darüber hinaus hat Heubner[25] eine Einteilung der Reizstoffe nach ihren vorwiegenden Angriffspunkten an Nerven, Capillaren bzw. direkt an den Gewebszellen vorgeschlagen, bei denen eine Ordnung in 7 Untergruppen vorgenommen wurde, die sich verteilen auf: 1. Reine Capillargifte. 2. Reine Nervengifte. 3. Capillar- und Nervengifte. 4. Reine Zellgifte. 5. Zellgifte mit gleichzeitiger Capillarwirkung. 6. Zellgifte mit gleichzeitiger Nervenwirkung. 7. Zellgifte mit gleichzeitiger Capillar- und Nervenwirkung.

Diese Auffassung, nach der die einzelnen Elemente der Haut von den verschiedenen Gruppen der Reizstoffe derart ungleichmäßig betroffen werden, läßt die Frage, ob alle diese unterschiedlich angreifenden Reizstoffe in gleicher Weise auf den Histamingehalt der Haut einwirken, um so reizvoller erscheinen. Die Untersuchung des Wirkungsmechanismus von Reizstoffen der Haut in Richtung auf das Freiwerden histaminähnlicher Substanzen wurde dadurch zu einer lohnenden Aufgabe, die neben der Ergänzung der bisher vorliegenden Einzelbefunde zugleich die Möglichkeit für eine Abgrenzung des Gültigkeitsbereichs der Regel erhoffen ließ, daß bei Gewebsschädigungen Histamin in Freiheit gesetzt wird.

Methodik.

Die Herstellung der Hautextrakte erfolgte nach der Codeschen[26] Modifizierung der Methode von Barsoum und Gaddum[27].

---

[24] Meyer, H. H., u. R. Gottlieb: Exper. Pharmakologie, S. 635. Berlin 1933. — [25] Heubner, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **107**, 129 (1925); Dtsch. med. Wschr. **1933**, S. 39. — [26] Code, C. F.: J. Physiol. (Brit.) **89**, 257 (1937). — [27] Barsoum, E. S., u. J. H. Gaddum: Ebenda **85**, 1 (1935).

Nach Entblutung der Tiere aus der Carotis wurde die Haut sofort und schnellstens abgewogen, zerstückelt und mit Seesand in 10%iger Trichloressigsäure zerrieben, nach 1stündigem Stehen filtriert und $1^1/_2$ Stunden lang mit konzentrierter Salzsäure auf dem Wasserbade gekocht. Sie wurde sodann mit Alkohol mehrfach eingedampft, ihr Rückstand in Ringer aufgelöst und das p_H der Lösung auf schwach alkalisch eingestellt.

Als Versuchstiere benutzten wir Ratten, für die Martin und Valenta[11] eine Anwesenheit von Histamin in der Haut erweisen konnten.

Der Histamingehalt der Extrakte wurde biologisch am Blutdruck der atropinisierten Katze (Avertinnarkose 0,15—0,17 g/kg) im Vergleich zur Wirkung des Histamindihydrochlorids (La Roche) bestimmt, nachdem wir uns zunächst überzeugt hatten, daß es mit dieser Methode gelingt, Histaminmengen bekannter Größenordnung mit einer maximalen Fehlerbreite von 20% zu ermitteln. Dabei wurden Lösungen von Histamindihydrochlorid verschiedener Konzentration ohne Kenntnis der Dosen, die nur dem Hersteller der Lösungen bekannt waren, ausgewertet. Erst nach der Austestung wurden die gefundenen Werte mit den tatsächlich verabreichten Gaben verglichen.

Die Lösungen enthielten Histamin in γ 15, 85, 32, 15, 9, 4, 20.
Gefunden wurde ..... 15, 70, 36, 16, 9, 5, 20.

Alle diese Werte beziehen sich ebenso wie auch sämtliche in der Folge angeführten auf Histamindihydrochlorid. Auf Histaminbase berechnet, sind alle Angaben um 40% zu vermindern.

Zur sicheren Identifizierung der in den Hautextrakten aufgefundenen pharmakologisch wirksamen Substanzen und zum Nachweis, daß es sich dabei tatsächlich um Histamin handelt, wurden außer den Versuchen am Blutdruck der Katze Kontrolluntersuchungen am Blutdruck des atropinisierten Kaninchens in tiefer Äthernarkose und Versuche am isolierten atropinisierten Meerschweinchendarm durchgeführt. In den Kaninchenversuchen erwiesen sich die Extrakte infolge der geringeren Empfindlichkeit dieser Tiere in niedriger Dosierung absolut unwirksam. Nach größeren Gaben wurde immer ein Anstieg des Blutdrucks zumeist von geringen Ausmaßen beobachtet. Am Meerschweinchendarm löste die Zugabe der Extrakte stets eine Kontraktion des Darmes aus. Die Anwesenheit von Histamin in den Hautextrakten ließ sich ferner auch dadurch bestätigen, daß nach Zusatz des Histaminasepräparates Torantil (1 Einheit/10 ccm Extrakt) und Aufbewahrung im Brutschrank bei 37° über 24 Stunden die Wirksamkeit der Extrakte restlos verschwand.

Die geprüften Reizstoffe wurden auf die vorher rasierte Rückenhaut der Tiere gebracht, und zwar wurden jeweils 4 Tropfen aufgegeben. Die Tropfen wurden sodann gleichmäßig auf einen Hautbezirk von etwa 4 qcm Größe verteilt. In bestimmten Zeitabständen nach dem Aufbringen der

Reizstoffe wurden die Tiere getötet und der behandelte Hautbezirk zu den Extrakten verarbeitet.

Für alle benutzten Stoffe ließ sich in Vorversuchen feststellen, daß sie selbst keinen Einfluß auf den Ausschlag der Histaminreaktion haben. Nach Zugabe dieser Stoffe in gleicher Dosierung, wie es bei den eigentlichen Hautversuchen geschah, zu Lösungen zu Histamindihydrochlorid bekannter Größenordnung, zeigte sich in allen Fällen, daß die behandelten Lösungen selbst nach mehrstündiger Aufbewahrung und häufiger Mischung gegenüber den unbehandelten Histaminkontrollösungen keine Abweichungen bezüglich der Wirksamkeit aufwiesen. Außerdem wurden noch folgende Versuche ausgeführt. Aus der Rückenhaut des gleichen Tieres wurden 2 Hautextrakte hergestellt und auf ihren Histamingehalt ausgewertet. Eins der beiden Hautstücke blieb völlig unbehandelt. Im zweiten Falle wurden dagegen nach der Einbringung der Haut in die Trichloressigsäure 4 Tropfen des jeweils geprüften Reizstoffes zu der Lösung zugesetzt, so daß der verwandte Reizstoff dem gesamten Extraktionsverfahren unterlag, andererseits aber auch die Möglichkeit für eine eventuelle Beeinflussung des aus der Haut freiwerdenden Histamins gegeben war. Abgesehen von einer Schwankungsbreite um 20% ließ sich für beide Extrakte bei allen angeführten Reizstoffen stets der gleiche Histaminwert feststellen. Eine Ausnahme bildeten die Versuche mit Veratrin. Bei diesen konnte eine exakte Auswertung am Blutdruck der Katze nicht durchgeführt werden, da den Extrakten noch die typische Veratrinwirkung mehr oder minder stark anhaftete, die zumeist zu einer Beeinträchtigung der Herz- und Kreislauftätigkeit führte und eine genaue quantitative Ermittlung der Histaminwerte unmöglich machte. Das gleiche gilt für die Versuche mit Nikotin.

I.

In Voruntersuchungen wurde zunächst für die rasierte Rückenhaut der Ratte in insgesamt 14 Einzelversuchen der normale Gehalt an Histamin bestimmt. Es ergaben sich dabei folgende Werte:

Histaminäquivalente in γ/g Haut														Mittelwert
22	19	21	22	21	25	24	17	19	22	26	22	21	18	$21 \pm 0{,}7$

Martin und Valenta[11] geben für die Haut der normalen Ratte einen Histamingehalt von 20,6, 12,5, 12,6 und 16,7 γ/g Gewebe an. Die Vornahme der Versuche an der unbehandelten Haut erfolgte zu verschiedenen Zeiten im Laufe der gesamten Untersuchung und an Ratten verschiedener Lieferung. Bei der geringen Schwankungsbreite der Normalwerte dürften die im weiteren angeführten Abweichungen von der Norm nach Behandlung der Haut mit Reizstoffen um so eher positiv zu werten sein. Zur Ausschaltung möglichst aller Fehlerquellen wurden außerdem sämtliche Ver-

suche einer mathematischen Auswertung mit Ermittlung der Streuung und des mittleren Fehlers unterworfen. Die angegebenen Differenzen von der Norm sind infolge der relativ geringen Anzahl der benutzten Tiere als reell zu werten, falls sie den dreifachen mittleren Fehler überschreiten. In diesem Falle sind sie in der letzten Rubrik der Tabellen durch das Zeichen + gekennzeichnet. Das Verhalten des Histamingehalts der Haut unter dem Einfluß der Reizstoffe wurde im allgemeinen über einen Zeitraum von 12—24 Stunden nach der Aufbringung der Reizstoffe verfolgt. Wie aus den Tabellen ersichtlich ist, wurden jeweils 3—4 Einzelversuche für die gewählten Zwischenzeiten ausgeführt.

Senföl.

Makroskopisch war an der Rattenhaut spätestens 10 Minuten nach der Aufbringung des Senföls eine Rötung festzustellen. Auch das Unterhautzellgewebe zeigte deutliche Hyperämie und Injektion der Gefäße. Diese Erscheinungen nahmen im weiteren Verlauf an Intensität zu, um in der Folge einem Ödem mäßigen Grades Platz zu machen.

Tabelle 1.

Zeit	Histaminäquivalente in γ/g Haut				Mittelwert	Differenz zur Norm	
	normal				$21 \pm 0{,}7$		
10 Min.	36	41	28	28	$34 \pm 3{,}2$	$+13 \pm 2{,}1$	+
20 „	30	27	9	12	$19 \pm 3{,}3$	$-2 \pm 2{,}9$	
1 Std.	20	16	13	15	$16 \pm 1{,}5$	$-5 \pm 1{,}5$	+
4 „	13	7	10		$10 \pm 1{,}7$	$-11 \pm 1{,}7$	+
12 „	16	15	15		$15 \pm 0{,}4$	$-6 \pm 1{,}6$	+
24 „	21	18	20		$20 \pm 0{,}9$	$-1 \pm 1{,}5$	

Insgesamt fand sich somit ein anfänglich steiler Anstieg des Histamingehalts der Haut, der bereits nach kürzester Zeit von einem Abfall und schließlich sogar von einem Absinken der Histaminwerte unter die Norm gefolgt war.

Demgegenüber konnten Bartosch[22] und auch Garan[28] bei Beatmung der Meerschweinchenlunge mit Allylsenföl weder das Auftreten von Lungenstarre noch eine Freisetzung von Histamin beobachten. Ebenso fand Hildebrandt[21] unter dem Einfluß von Senföl nur eine Abnahme des Histamins in der Haut, deren Maximum nach 2—24 Stunden erreicht wurde. Ein Anstieg des Histamins wurde von Hildebrandt überhaupt nicht beobachtet. Aus seinen Angaben ist jedoch nicht zu ersehen, ob bereits in dem kurzen Intervall von 10—20 Minuten nach der Zugabe des Senföls auf die Haut, das nach den eigenen Befunden für den Nachweis einer Zu-

[28] Garan, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 250 (1938).

nahme des Histamins ausschließlich geeignet ist, Extrakte hergestellt wurden.

Zu dem Zeitpunkt des Eintritts der Histaminabnahme ist nach den Befunden Hildebrandts der Wassergehalt der Haut deutlich erhöht. Bei der Bestimmung des Trockengewichts der Haut konnten wir uns ebenfalls von einer Zunahme des Wassergehalts überzeugen. Die Tabelle 2 enthält die Abnahme des Gewichtes der Haut beim Trocknen in Prozent des Ausgangsgewichtes. Jeder Wert stellt das Mittel aus je 3 Einzelversuchen dar. An der unbehandelten Haut wurden 4 Einzelbestimmungen durchgeführt.

Tabelle 2. Flüssigkeitsgehalt der Haut in Prozent.

Normal	Senföl nach				
	10 Min.	20 Min.	1 Std.	4 Std.	24 Std.
65,5	70,0	66,5	73,1	78,3	72,6
	Differenz zur Norm in %:				
	6,9	1,5	10,0	19,4	10,9

Deutlichen Umfang erreichte demnach die Ödembildung nach Ablauf von 1 Stunde und in den folgenden Stunden. Dadurch verschieben sich natürlich auch die gefundenen Histaminwerte, und die Abweichungen von der Norm werden bezogen auf das Trockengewicht der Haut geringfügiger. Die gefundene Vermehrung des Wassergehalts der Haut berechtigt aber unseres Erachtens nicht zu der Annahme, daß die Senkung des Histamingehalts durch die Ödembildung überhaupt nur vorgetäuscht ist und nicht tatsächlich stattfindet. Jedenfalls läßt sich wohl kaum bestreiten, daß der Abfall der Histaminkurve, der 20 Minuten nach der Einwirkung des Senföls im Anschluß an den anfänglich steilen Anstieg einsetzt, völlig unabhängig von einem Flüssigkeitseinstrom in das Unterhautzellgewebe erfolgt.

An der menschlichen Haut lösten 4 Tropfen Senföl fast unmittelbar nach dem Auftropfen auf den Unterarm eine intensive Reizwirkung in Form von Beißen und Brennen aus. Etwa 4—5 Minuten später setzte eine rasch sich ausbreitende Rötung ein, die weit über den mit Senföl in Berührung gebrachten Hautbezirk hinausreichte und etwa 1 Stunde lang anhielt. Die Hauttemperatur zeigte einen Anstieg der Temperatur, der nach 7 Minuten eintrat, ein Maximum von 3° erreichte und nach 45 Minuten restlos angeklungen war. Die Messung der Hauttemperatur wurde mit einem Thermoelement vorgenommen, und zwar benutzten wir das elektrische Hautthermometer nach Büttner von der Fa. Schmiedeberg & Viereck.

Cantharidin und Aceton.

Cantharidin wurde in 10%iger Lösung auf die Haut gebracht. Als Lösungsmittel fand Aceton Verwendung, nachdem in Vorversuchen festgestellt war, daß die Zugabe von Aceton keinen Einfluß auf den Histamingehalt der Haut ausübt. Die Histaminwerte der Haut betrugen 20 Minuten bzw. 1 Stunde nach der Einwirkung von Aceton 22 bzw. 19 und 21 γ/g Haut. Die Haut der Ratte zeigte beim Cantharidin nach Ablauf von 1 Stunde und bis zu 6 und 12 Stunden leichte Rötung und vermehrte Gefäßinjektion. In einzelnen Fällen kam es zu leichter Quaddelbildung. Größere Blasen wurden nie beobachtet.

Tabelle 3.

Zeit	Histaminäquivalente in γ/g Haut	Mittelwert	Differenz zur Norm
	normal	$21 \pm 0{,}7$	
10 Min.	28 26 17	$24 \pm 3{,}3$	$+ 3 \pm 2{,}0$
20 „	31 34 23 29	$29 \pm 2{,}4$	$+ 8 \pm 1{,}8$ +
1 Std.	27 32 25	$28 \pm 2{,}1$	$+ 7 \pm 1{,}7$ +
2 „	33 46 65	$48 \pm 8{,}9$	$+ 27 \pm 4{,}1$ +
4 „	52 30 36	$39 \pm 4{,}6$	$+ 18 \pm 2{,}7$ +
6 „	22 26 25 39	$24 \pm 1{,}2$	$+ 3 \pm 1{,}6$
12 „	26 22 23	$24 \pm 1{,}2$	$+ 3 \pm 1{,}6$

Auf das Trockengewicht der Haut bezogen, zeigt die Änderung der Histaminwerte die gleichen Ausmaße. Jeder der angeführten Trockenwerte bezieht sich wiederum auf 3 Einzelversuche. Das gleiche gilt auch für alle in der Folge angeführten Daten. Die Angaben über den Flüssigkeitsverlust der Haut erfolgen stets in Prozenten des Ausgangswertes.

Tabelle 4. Flüssigkeitsgehalt der Haut in Prozent.

Normal	Cantharadin nach		
	20 Min.	2 Std.	6 Std.
65,5	67,2	69,2	67,0

An der menschlichen Haut erfolgte im Selbstversuch beim Aufbringen von 4 Tropfen Cantharidinlösung erst nach etwa 12 Stunden eine Rötung der Haut. Nach 24 Stunden stellte sich eine Blasenbildung ein, deren Umfang 2-Markstückgröße im Maximum erreichte, und die zusammen mit der Rötung nach 3 Tagen allmählich verschwand. Der Temperaturanstieg der Haut betrug im Stadium der stärksten Hautrötung nach 24 Stunden 3°.

Capsicum.

Zu diesen Versuchen wurde die offizinelle Tinctura Capsici benutzt. Ihre Wirkung auf die Rattenhaut bestand in einem Erythem mittleren

Grades, das etwa nach 1 Stunde erstmalig festzustellen war und bis zu 12—24 Stunden anhielt. Weitere Veränderungen der Haut wurden nicht beobachtet. Die ermittelten Histaminwerte gibt die Tabelle 5 wieder.

Tabelle 5.

Zeit	Histaminäquivalente in γ/g Haut	Mittelwert	Differenz zur Norm
	normal	$21 \pm 0{,}7$	
30 Min.	29 23 26	$23 \pm 1{,}7$	$+ 2 \pm 1{,}8$
1 Std.	36 31 22 23	$28 \pm 3{,}4$	$+ 7 \pm 2{,}2$ +
2 „	36 44 37 33	$38 \pm 2{,}3$	$+ 17 \pm 1{,}8$ +
6 „	33 28 35	$32 \pm 2{,}1$	$+ 11 \pm 1{,}7$ +
12 „	36 34 31	$34 \pm 1{,}5$	$+ 13 \pm 1{,}6$ +
24 „	37 30 39	$35 \pm 2{,}7$	$+ 14 \pm 1{,}9$ +

Es bildete sich demnach unter dem Einfluß der Tinct. Capsici ebenfalls eine beträchtliche Vermehrung des Hauthistamins aus.

An der menschlichen Haut erwies sich die Tinct. Capsici absolut unwirksam. Erst beim Einreiben in die Haut ließ sich eine flüchtige Hyperämie erzielen. Die Hauttemperatur zeigte auch in diesem Stadium keine Abweichung von der Norm.

Crotonöl.

An der Rattenhaut bewirkte Crotonöl $^1/_2$ Stunde nach dem Aufbringen bereits eine leichte Rötung, die sich im weiteren Verlauf zunehmend verstärkte und nach 2 Stunden eine beträchtliche Intensität erreichte, um insgesamt 12—24 Stunden anzuhalten. Teilweise war auch eine circumscripte Quaddelbildung zu bemerken. Die Histaminwerte zeigten wiederum einen deutlichen Anstieg. Im einzelnen fanden sich folgende Resultate.

Tabelle 6.

Zeit	Histaminäquivalente in γ/g Haut	Mittelwerte	Differenz zur Norm
	normal	$21 \pm 0{,}7$	
10 Min.	32 39 44 37	$38 \pm 2{,}5$	$+ 17 \pm 1{,}8$ +
30 „	33 29 29	$30 \pm 1{,}4$	$+ 9 \pm 1{,}7$ +
1 Std.	28 26 35	$30 \pm 2{,}7$	$+ 9 \pm 2{,}0$ +
2 „	28 31 39	$33 \pm 3{,}3$	$+ 12 \pm 2{,}0$ +
4 „	36 25 28 25	$29 \pm 2{,}6$	$+ 8 \pm 1{,}8$ +
6 „	16 22 12	$17 \pm 2{,}9$	$- 4 \pm 1{,}9$
12 „	30 24 27	$27 \pm 1{,}7$	$+ 6 \pm 1{,}7$ +
24 „	22 20 21	$21 \pm 0{,}5$	$0 \pm 1{,}6$

Wie die Bestimmung des Trockengewichtes ergab, übt auch Crotonöl keinen Einfluß auf den Wassergehalt der Haut aus. Die Erhöhung der Histaminwerte gegenüber der Norm bleibt somit auch auf Trockengewicht der Haut bezogen, bestehen.

Tabelle 7. Flüssigkeitsgehalt der Haut in Prozent.

Normal	Crotonöl nach		
	30 Min.	2 Std.	6 Std.
65,5	65,1	67,2	64,1

An der menschlichen Haut erzielte Crotonöl eine langanhaltende Pustelbildung, vor allem im Bereich der Haarfollikel. Der Eintritt der Wirkung machte sich nach etwa 3 Stunden in allen Versuchen bemerkbar. Die Hautpusteln blieben bis zu 14 Tagen in fast gleichmäßiger Stärke bestehen. Bei der Temperaturmessung mittels Thermoelement fand sich keine Abweichung gegenüber der unbehandelten Haut.

Terpentinöl.

Die Veränderungen, die Terpentinöl an der Rattenhaut auslöste, waren sehr geringfügig und bestanden nur in einem Erythem mäßigen Grades und einer leichten Gefäßinjektion im Bereich des Unterhautzellgewebes. Die zeitliche Dauer der Terpentinölwirkung erstreckte sich bei makroskopischer Betrachtung der Haut zwischen 2 und 6—12 Stunden nach der Aufbringung des Öles. Der Anstieg der Histaminwerte ist aus der Tabelle 8 zu entnehmen.

Tabelle 8.

Zeit	Histaminäquivalente in γ/g Haut	Mittelwerte	Differenz zur Norm
	normal	$21 \pm 0{,}7$	
30 Min.	19 26 22	$22 \pm 1{,}7$	$+ 1 \pm 1{,}8$
2 Std.	20 23 33 29	$26 \pm 2{,}9$	$+ 5 \pm 2{,}1$
4 „	44 34 32 34	$36 \pm 2{,}7$	$+ 15 \pm 1{,}9$ +
6 „	32 28 26	$29 \pm 1{,}8$	$+ 8 \pm 1{,}7$ +
12 „	25 22 25	$24 \pm 1{,}0$	$+ 3 \pm 1{,}6$

An der menschlichen Haut konnte eine Wirkung des Terpentinöls nicht beobachtet werden.

Milchsäure.

Nach Zugabe von 4 Tropfen konzentrierter Milchsäure zeigte die Rattenhaut etwa nach $^1/_2$—1 Stunde deutliche Schädigungen, teilweise mit Schwellung und Rötung von ungleichmäßiger Ausdehnung, teilweise mit weißlicher Verfärbung. Die weißlich verfärbten Bezirke breiteten sich im weiteren Verlaufe zunehmend aus, so daß schließlich in der gesamten Hautpartie, die mit der Milchsäure in Berührung gekommen war, diese Färbung vorherrschte.

Tabelle 9.

Zeit	Histaminäquivalente in γ/g Haut			Mittelwerte	Differenz zur Norm
	normal			$21 \pm 0{,}7$	
10 Min.	22	25	25	$24 \pm 1{,}0$	$+3 \pm 1{,}6$
30 „	17	16	16	$16 \pm 0{,}4$	$-5 \pm 1{,}5$ +
1 Std.	27	22	17	$22 \pm 2{,}9$	$+1 \pm 2{,}2$
4 „	13	14	22	$16 \pm 2{,}9$	$-5 \pm 1{,}9$
12 „	25	23	17	22 ± 2.4	$+1 \pm 1{,}8$

Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Versuchsergebnissen konnte bei den Untersuchungen mit Milchsäure eine vermehrte Freisetzung von Histamin nicht beobachtet werden. Dieser Befund ist nicht durch eine Zunahme des Wassergehalts der Haut bedingt. Der Verlust an Flüssigkeit weicht jedenfalls bei der Bestimmung des Trockengewichtes der Haut nicht wesentlich von den Befunden an der unbehandelten Haut ab.

Tabelle 10. Flüssigkeitsgehalt der Haut in Prozent.

Normal	Milchsäure nach		
	1 Std.	4 Std.	12 Std.
65,5	65,6	68,8	68,1

Arsenik.

Die Haut der Ratte zeigte 1 Stunde nach der Einwirkung von Arsenik, das in 20%iger Aufschwemmung in Glycerin verwandt wurde, eine deutliche Rötung, die teilweise mit Quaddelbildung verbunden war. Im Bereiche des Unterhautzellgewebes waren dazu starke Gefäßerweiterungen und intensive Rötung der gesamten behandelten Hautpartien festzustellen, die im Laufe der Behandlung der Haut mit Arsen noch an Intensität zunahmen. Bei 12stündiger Einwirkungsdauer starben 2 von 5 Tieren. Auch beim Arsen finden sich ebenso wie bei der Milchsäure trotz der deutlichen Hyperämie der Haut keine erhöhten Histaminwerte.

Tabelle 11.

Zeit	Histaminäquivalente in γ/g Haut			Mittelwerte	Differenz zur Norm
	normal			$21 \pm 0{,}7$	
20 Min.	17	19	17	$18 \pm 0{,}7$	$-3 \pm 1{,}5$
1 Std.	30	21	16	$22 \pm 4{,}1$	$+1 \pm 2{,}3$
4 „	17	18	18	$18 \pm 0{,}4$	$-3 \pm 1{,}5$
12 „	17	23	17	$19 + 2{,}0$	$-2 + 1{,}7$

Die Bestimmung des Flüssigkeitsgehalts der Haut ließ wiederum keine Abweichung von der Norm erkennen. Eine Erklärung für die niedrigen Histaminwerte dürfte also in dieser Richtung nicht zu suchen sein.

Tabelle 12. Flüssigkeitsgehalt der Haut in Prozent.

Normal	Arsenik nach		
	1 Std.	4 Std.	12 Std.
65,5	64,6	66,9	67,1

Arsenik wurde auch von Bachmann[29] hinsichtlich seines Einflusses auf den Histamingehalt lebenden Gewebes geprüft. Bachmann benutzte in seinen Versuchen den isoliert durchströmten Darm der Katze, dessen abströmende Flüssigkeit auf ihre Wirksamkeit an Histamin am Meerschweinchendarm untersucht wurde. Eine Freisetzung von Histamin wurde nur bei der Verwendung sehr hoher Dosen in 2 von 6 Versuchen beobachtet. Schwächere Gaben blieben unwirksam.

II.

In einer zweiten Versuchsserie wurden weitere Reizstoffe hinsichtlich ihres Einflusses auf den Histamingehalt der Haut untersucht. Dabei wurde jedoch auf eine genauere Analyse des zeitlichen Ablaufs im Verhalten des Hauthistamins verzichtet und lediglich Wert auf die Feststellung gelegt, ob eine Änderung des Histamingehalts erfolgt oder nicht. Aus diesem Grunde wurde in diesen Versuchen nur zu bestimmten Zeitpunkten, und zwar 10 Minuten, 20 Minuten sowie 1 Stunde bzw. 4 Stunden nach der Aufbringung der Reizstoffe der Histamingehalt der Haut ermittelt. Außerdem wurde die Tierzahl auf insgesamt 6 Tiere für jeden Reizstoff beschränkt. Bei der mathematischen Auswertung wurde deshalb für alle 6 Versuche gemeinsam berechnet, ob ein Unterschied gegenüber den Werten der unbehandelten Haut besteht.

In der folgenden Tabelle sind zunächst die Ergebnisse zusammengestellt, die bei der Behandlung der Haut mit Colchicin, Emetin, Coffein sowie Allylformiat, Ammoniak und Sublimat erzielt wurden, und die bei allen Stoffen in einem Anstieg des Histamingehalts bestanden. Die Dosis betrug stets 4 Tropfen. Colchicin wurde als reine Base in 10%iger wässeriger Lösung und Emetin als Emetin. hydrochlor. in 5%iger Lösung benutzt. Die Applikation des Coffeins erfolgte in 20%iger Lösung in Form des Coffein. natr. benzoic. Allylformiat und Ammoniak wurden in konzentrierter Form und Sublimat in 5%iger Lösung auf die Haut gebracht.

Colchicin, Emetin und Coffein bewirkten an der Rattenhaut makroskopisch eine nicht übermäßig intensive, aber deutliche Rötung. Auch das Unterhautzellgewebe wies Hyperämie und Gefäßerweiterung auf. Beim Emetin waren diese Erscheinungen etwas stärker ausgeprägt, beim Coffein dagegen relativ gering. Allylformiat und Ammoniak lösten stets stärkere Hyperämie, teilweise verbunden mit lokaler Quaddelbildung,

[29] Bachmann, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 345 (1938).

Tabelle 15. Histaminäquivalente in γ/g Haut.

Zeit	Colchicin	Emetin	Coffein
10 Min.		37 36	
20 „	31 35	34 33	37 32 37
1 Std.	33 38	27 31	29 30 27
4 „	37 29		
Mittelwerte	34 ± 1,4	31 ± 1,5	32 ± 1,7
Differenz zur Norm..	+ 13 ± 1,4	+ 10 ± 1,5	+ 11 ± 1,5

Zeit	Allylformiat	Ammoniak	Sublimat
10 Min.	29 26	30 33	
20 „	30 35	28 30	27 33 24
1 Std.	33 29	27 34	28 41 31
Mittelwerte	30 ± 1,3	30 ± 1,2	31 ± 2,4
Differenz zur Norm..	+ 9 ± 1,4	+ 9 ± 1,3	+ 10 ± 1,9

aus. Für Sublimat waren umschriebene Blutungen und Hyperämie des Unterhautzellgewebes, sowie leichte Rötung der Epidermis charakteristisch.

Über eine perkutane Wirksamkeit von Colchicin finden sich bisher in der Literatur unseres Wissens keine Angaben vor. Bei subcutaner Applikation beobachtete Jacob[30] im Selbstversuch das Auftreten stärkerer Entzündungserscheinungen. Ebenso beschrieben Führer und Rehbein[31], daß Colchicin am Tier im Bereich des Unterhautzellgewebes nach subcutaner Zufuhr lokale Hyperämie verursachte und auch die gleichen Erscheinungen beim Einträufeln in den Bindehautsack des Kaninchens an der Conjunctiva hervorrief.

Abgesehen von der Beeinflussung des Histamingehalts und der eintretenden Hautveränderung konnte das Eindringen von Colchicin durch die Haut und eine Resorption dieses Stoffes in den Organismus bei percutaner Applikation auch in Versuchen an Mäusen unter Beweis gestellt werden, bei denen 24—72 Stunden nach dem Aufbringen von 2 Tropfen Colchicin in 10%iger Lösung 5 von 6 Tieren starben. Der Einwand, daß kleinste Verletzungen der Haut infolge des Rasierens für die Aufnahme des Colchicins maßgebend sind, trifft auf diese Versuche z. T. nicht zu. 4 der genannten Tiere blieben unrasiert. Auch von diesen starben 3 Tiere. Gemessen an der von Führer[32] ermittelten subcutan tödlichen Dosis der Maus in Höhe von 0,003—0,005 g/kg ist die benutzte percutan wirksame Gabe als recht beträchtlich anzusehen. Auch bei der Ratte wirkte Colchicin in einer Dosierung von 10 Tropfen der 20%igen Lösung beim

[30] Jacobj, C.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **27**, 119 (1890). — [31] Führer, H., u. M. Rehbein: Ebenda **79**, 1 (1916). — [32] Führer, H.: Ebenda **63**, 357 (1910).

Aufbringen auf die unrasierte Rückenhaut tödlich. Eine genauere Austestung der letal wirksamen Dosis wurde in beiden Fällen nicht vorgenommen.

Eine hautreizende Wirkung des Emetin wurde bereits von Bazin[33] sowie Delieux[34] beschrieben, die an der Haut durch Emetin Entzündungserscheinungen und nach mehrmaliger Applikation Pusteln und Papeln erzeugen konnten. Nach Zepf[35] bewirken auch Ipecacuanha-Salben bei wiederholter Einreibung an der äußeren Haut Erythem- und Pustelbildung.

Für Coffein findet sich bei Lewin[36] ein Fall angeführt, wo nach subcutaner Beibringung schwere entzündliche Prozesse der Haut sich ausbildeten. Im übrigen gilt die örtliche Wirkung des Coffeins für die äußere Haut als nicht beträchtlich; Schleimhautaffektionen sind jedoch, zumal beim Genuß konzentrierter Lösungen, vielfach beobachtet worden. Bei den weiteren benutzten Stoffen ist die Beteiligung einer lokalen Reizkomponente am Wirkungsbild hinreichend bekannt.

Es bleibt noch zu erwähnen, daß für Colchicin, Emetin, Sublimat und Ammoniak schon einige Tierversuche vorliegen, die sich speziell mit der Wirkung dieser Substanzen auf den Histamingehalt der Gewebe befassen. Diese Untersuchungen sind allerdings z. T. unter völlig anders gearteten Versuchsbedingungen durchgeführt. Infolgedessen ist eine Vergleichsmöglichkeit mit den eigenen Befunden zumeist nicht direkt gegeben. So benutzte Bachmann[29] den isoliert durchströmten Darm der Katze, um den Einfluß von Colchicin, Emetin und Sublimat auf eine Änderung des Histamingehalts zu prüfen. Beim Colchicin konnte dabei eine Freisetzung von Histamin nicht erwiesen werden. Nach Durchströmung mit Sublimat enthielt die abströmende Flüssigkeit regelmäßig und nach der Einwirkung von Emetin in 2 von 3 Fällen histaminartige Substanzen, die durch die Austestung am Meerschweinchendarm nachgewiesen werden konnten. Für Ammoniak fand Garan[28] entsprechend an der künstlich beatmeten Meerschweinchenlunge, daß nach der Inhalation dieses Stoffes Histamin in stärkerem Umfange auftrat.

Eine letzte Reihe von Versuchen wurde mit 58%iger Ameisensäure und 20%iger Trichloressigsäure angestellt. Diese Säuren verhalten sich in ihrer Ätzwirkung auf die Haut deutlich unterschiedlich. Die Ameisensäure gilt als mehr diffus in die Tiefe dringendes Ätzmittel, während die Trichloressigsäure durch eine eiweißfällende und schorfbildende Wirkung gekennzeichnet ist.

---

[33] Bazin: Lecons sur les affect. art. Paris 1862, S. 106. — [34] Delieux: Gaz. de Paris 1852, Nr. 6, zit. n. L. Lewin: Gifte und Vergiftungen, S. 746. Berlin 1929. — [35] Zepf, P.: Arch. internat. Pharmacodynam. **12**, 345 (1904). — [36] Lewin, L.: Gifte und Vergiftungen, S. 748. Berlin 1929.

Außerdem wurde noch der Spiritus formicarum, der als mildes Hautreizmittel therapeutisch Verwendung findet, hinsichtlich seines Einflusses auf den Histamingehalt der Haut geprüft.

Tabelle 16. Histaminäquivalente in γ/g Haut.

Zeit	Ameisensäure	Trichloressigsäure	Spiritus formicarum
10 Min.	25	25	24 22
20 „	24 19	26 24	19
1 Std.	26	19	20 21
4 „	23 25	22 23	20
Mittelwerte	24 ± 1,1	23 ± 1,0	21 ± 0,7
Differenz zur Norm..	+ 3 ± 1.3	+ 2 ± 1,2	0 ± 1,1

Wie aus der Tabelle 16 ersichtlich ist, fehlt für alle diese Substanzen jeder Einfluß auf den Histamingehalt der Haut.

Die Veränderungen der Haut nach ihrer Behandlung mit Ameisensäure bestanden in einer Rötung mäßigen bis mittleren Grades. Bei der Trichloressigsäure kam außerdem eine fleckförmig ausgebreitete, weißliche Verfärbung und Schorfbildung hinzu. Beim Spirit. formic. wurde nur in einem Teil der Fälle eine ganz geringe Hyperämie des Unterhautzellgewebes beobachtet.

III.

Zur Erleichterung der Übersicht sind die gesamten erzielten Ergebnisse noch einmal tabellarisch zusammengefaßt.

Außerdem ist für diejenigen Reizstoffe, bei denen die Beeinflussung des Hauthistamins über einen längeren Zeitraum von 12—24 Stunden genauer verfolgt wurde, der Verlauf ihrer Histaminkurven graphisch dargestellt. Die Abb. 1 umfaßt dabei die Gruppe der sogenannten Hautreizstoffe, von denen Senföl, Cantharidin, Capsicum, Crotonöl und Terpentinöl geprüft wurden. In der Abb. 2 sind die Histaminwerte für Arsenik und Milchsäure zusammengestellt.

Tabelle 17. Histamingehalt der Haut.

Vermehrt	Unverändert
Senföl	Milchsäure
Cantharidin	Trichloressigsäure
Capsicum	Ameisensäure
Crotonöl	Spiritus formicarum
Terpentinöl	Arsenik
Colchicin	Aceton
Emetin	
Coffein	
Allylformiat	
Ammoniak	
Sublimat	

Bei der Beurteilung der Kurven ist allerdings zu beachten, daß sie u. E. keineswegs dazu verleiten dürfen, quantitative Vergleiche zwischen den einzelnen benutzten Stoffen anzustellen. Eine derartige Betrachtungsweise verbietet sich infolge der verschiedenen Kon-

zentration und Dosierung, in der die einzelnen Mittel zur Anwendung kamen. Es sind demnach die wiedergegebenen Kurven lediglich im einzelnen als eine bildhafte Ergänzung zu den zahlenmäßigen Angaben zu werten.

IV.

Die Einordnung der Reizstoffe in verschiedene Gruppen beruht, wie bereits erwähnt, auf dem ungleichmäßigen Ablauf des Wirkungsbildes

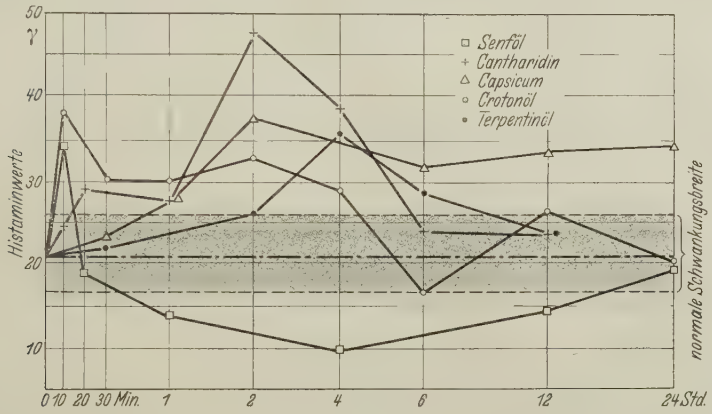


Abb. 1.

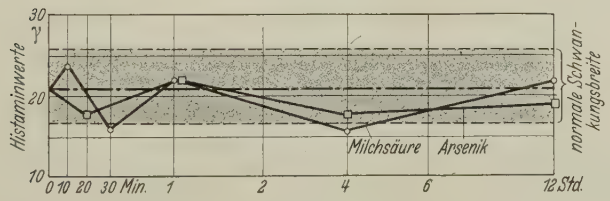


Abb. 2.

der einzelnen Reizstoffe, ferner auf Differenzen in der Wirkungsdauer und vor allem auf Unterschieden im Angriffspunkt. Auf die wichtigsten Einteilungsschemata (s. Meyer-Gottlieb[24] und Heubner[25]) wurde bereits verwiesen.

Betrachtet man nun die eigenen Resultate in Hinblick auf eine Klassifizierung der Reizstoffe in bestimmte Untergruppen, so ergibt sich, daß abgesehen von gewissen Schwankungen im zeitlichen Verlauf im übrigen auf Grund der Histaminbestimmungen nur 2 Gruppen abzugrenzen sind. Bei der 1. Gruppe von Substanzen kommt eine deutliche Zunahme des Histamingehalts nach der Einwirkung auf die Haut zustande. In der 2. Gruppe von Reizstoffen unterliegen die Histaminwerte der Haut dagegen im wesentlichen keiner Änderung.

Es ist nun interessant, daß die 1. Gruppe sich weitgehend identisch erweist mit den sogenannten Hautreizstoffen und entzündungserregenden Substanzen, und in der 2. Gruppe, bei der eine Beeinflussung des Histamins ausbleibt, nahezu ausschließlich die zelltötenden und nekrotisierenden Gifte stehen. Es bestätigt sich somit, daß bei allen untersuchten Reizstoffen mit relativ schwacher Reizwirkung entsprechend der Ansicht von Lewis[2], Feldberg und Schilf[4] tatsächlich Histamin vermehrt in Freiheit gesetzt wird. Darüber hinaus wurde aber festgestellt, daß dem Histaminmechanismus offenbar im Bereich des in der Haut sich abspielenden Prozesses überhaupt keine Bedeutung zuzumessen ist, wenn eine stärkere Schädigung der Haut unter Verletzung von Gewebszellen erfolgt. Bisher vermutete man dagegen, daß auch bei derartigen Vorgängen Histamin neben anderen Stoffen, insbesondere Zellzerfallsprodukten beteiligt sein sollte.

In der Gruppe der eigentlichen Hautreizstoffe, bei denen eine Zunahme des Histamingehalts eintritt, geht der zeitliche Ablauf der sichtbaren Hautveränderungen zumeist parallel mit der Dauer des Anstiegs der Histaminkurven. Die vorliegenden Befunde berechtigen jedoch nicht dazu, Beziehungen quantitativer Art zwischen dem Ausmaß der auftretenden Hautschädigung und dem Umfang in der Verschiebung der Histaminwerte gegenüber der Norm aufzustellen. Vor allem bedeutet die Stärke der Hautrötung kein Maß für die Größe der Histaminvermehrung. Bei der Gruppe der zellschädigenden Substanzen kommt sogar in vielen Fällen, zumal im Beginn der Einwirkung, eine deutlich ausgeprägte Rötung der Haut zustande, ohne daß gleichzeitig im Hautextrakt eine Veränderung des Histamingehalts gefunden wird.

Abgesehen von den beiden genannten Gruppen ist eine weitere Differenzierung der Reizstoffe aus der Bestimmung des Histaminwertes der Haut nicht abzuleiten. Insbesondere kommen etwaige feinere Unterschiede im Angriffspunkt, deren Nachweis wir zugleich mit einer entsprechenden Einteilung der Reizstoffe Heubner[25] verdanken, im Verhalten des Histamingehalts der Haut nicht zum Ausdruck. Diese Tatsache ist eigentlich nicht überraschend, wenn man bedenkt, daß wahrscheinlich die Reizung des Gewebes den primären Faktor abgibt und die Freisetzung des Histamins erst sekundär erfolgt. Im einzelnen soll auf die Befunde Heubners nur eingegangen werden, soweit die von ihm untersuchten Reizstoffe auch bei den eigenen Arbeiten Berücksichtigung fanden. So haben z. B. Capsicum, Cantharidin und Senföl nach den Untersuchungen Heubners hinsichtlich ihres Wirkungscharakters deutliche Unterschiede aufzuweisen. Nach dem Wirkungsmechanismus geordnet gilt dabei folgende Einteilung: Capsicum = reines Nervengift; Cantharidin = reines Zellgift; Senföl = Zellgift mit gleichzeitiger Capillar- und Nervenwirkung. Wenn man dagegen allein den Einfluß dieser Stoffe auf den Histamingehalt der Haut berücksichtigt, so zeigen sie, abgesehen von Schwankungen im

zeitlichen Verlauf, ein völlig gleichartiges Verhalten. Wie bereits betont, verlieren durch diese Feststellung die Beobachtungen von Heubner keineswegs an Bedeutung. Ihr Wert wird im Gegenteil eher gesteigert, da die Untersuchungen Heubners es erlauben, auch dort noch eine Differenzierung der Reizstoffe vorzunehmen, wo andere Methoden dies nicht gestatten. Ein Gegenbeispiel bieten unter den eigenen Befunden Veratrin und Capsicum, die nach Heubner der gleichen Gruppe angehören und beide zu den Nervenreizmitteln gehören. Nimmt man jedoch den Anstieg des Histamins als Test für ihre Wirkung auf die Haut, so ergibt sich, daß für beide Stoffe in dieser Hinsicht ein abweichendes Verhalten vorliegt.

Im Vergleich zu den eigenen Untersuchungen ist schließlich noch auf die Ergebnisse von Garan[28] hinzuweisen. Garan schließt aus seinen Versuchen an der Meerschweinchenlunge, daß in bezug auf die Freisetzung von Histamin Stoffe mit einer gewebsreizenden Wirkung und solche mit einer Nervenreizwirkung deutlich voneinander abweichen. Diese Auffassung Garans konnte jedoch durch die eigenen Befunde nicht bestätigt werden. Die Beobachtungen Garans erstrecken sich auf Ammoniak und verschiedene Kohlenwasserstoffe. Bei diesen war gemeinsam in der abfließenden Flüssigkeit der isoliert durchströmten Lunge nach der Inhalation dieser Stoffe Histamin nachweislich enthalten. Außerdem untersuchte Garan Allylsenföl und Chloraceton, die sich in mäßiger Dosierung unwirksam, und ferner Acrolein sowie Chlorpikrin, die sich auffallend wenig aktiv erwiesen. Demgegenüber verhielten sich in den eigenen Versuchen sowohl Pharmaka vom Typus des reinen Nervengiftes wie auch solche mit einer vorwiegend auf die Zelltätigkeit gerichteten Wirkung in bezug auf die Beeinflussung des Hauthistamins prinzipiell gleichartig.

Insgesamt hat sich demnach die Bestimmung des Histamingehalts der Haut und seine Änderung unter dem Einfluß der Reizstoffe nicht geeignet erwiesen, um eine Einteilung der Reizstoffe nach ihren besonderen Angriffspunkten im Gewebe durchzuführen, und zwar in dem Sinne, daß einzelne der lokal angreifenden Substanzen mit bestimmten morphologisch bzw. funktionell differenzierten Gewebselementen der Haut, wie Nerven, Gefäßen usw., bevorzugt in Reaktion treten. Dafür bietet jedoch das Verhalten des Hauthistamins unter der Einwirkung von Reizstoffen in einer anderen Richtung gewisse Anhaltspunkte, die für das Verständnis des Wirkungsmechanismus von Bedeutung zu sein scheinen. Auch hierbei handelt es sich wieder um das Problem einer Analyse des Angriffspunktes. Allerdings beschränkt sich die Fragestellung darauf, welche Strukturelemente der Hautzellen bei der Freisetzung von Histamin im wesentlichen eine Rolle spielen.

V.

Die Herkunft des natürlichen Histamins der Gewebe ist noch unbekannt. Zwei Möglichkeiten werden insbesondere erörtert. Entweder ist das Histamin als solches in den lebenden Zellen vorhanden, oder die

Zellen enthalten eine wirksame Vorstufe, vielleicht in Form einer Bindung oder Anlagerung an andere Stoffe, die dann bei Reizung oder Schädigung der Zellen in die aktive Form übergeht. Es ist jedoch von vornherein unwahrscheinlich, daß Histamin in freier und diffusibler Form in den Geweben vorkommt, da sich aus einzelnen Organen, wie z. B. aus der Lunge, Mengen gewinnen lassen, die bei ihrem Übertritt ins Blut für das Auftreten eines schweren Kollapses genügen würden. Auch die Anwesenheit eines histaminzerstörenden Fermentes in vielen Geweben und Organen spricht dafür, daß das Histamin zumindest in einer für das Ferment unangreifbaren Form in den Geweben vorliegen muß. Nach Best und Mac Henry[37] fehlt allerdings die Histaminase anscheinend in der Haut und ferner auch in Herz und Magenwandung, so daß dieses letzte Argument eventuell nicht allgemeine Gültigkeit besitzt.

Die eigenen Befunde bieten nun u. E. auch die Möglichkeit, die Frage nach der Herkunft des Histamins im lebenden Gewebe unter einem neuen Gesichtspunkt zu beleuchten. Dieser ergibt sich auf Grund auffallender Parallelen, die zwischen dem verschiedenartigen Verhalten der untersuchten Pharmaka in bezug auf die Freisetzung von Histamin und die Wirkung der gleichen Stoffe auf bestimmte andere Funktionen der lebenden Zellen bestehen.

Bei vergleichenden Untersuchungen der Wirksamkeit verschiedener, pharmakologisch aktiver Substanzen auf das Seeigelei konnten Brock, Druckrey und Herken[38] feststellen, daß eine Reihe der geprüften Stoffe in erster Linie eine Hemmung der Zellteilungsvergänge bewirkte, und zwar ohne nennenswerte Beeinflussung des Stoffwechsels. Andere Pharmaka lösten umgekehrt vorwiegend eine Änderung des Sauerstoffverbrauchs aus, ohne wiederum die Zellteilung wesentlich zu stören. Da der Atmungsstoffwechsel vor allem im Cytoplasma lokalisiert ist, so erscheint es berechtigt, diese Stoffe als Cytoplasmagifte anzusehen, während es sich bei den Substanzen, die die Zellteilungsvorgänge verhindern, um Kerngifte handeln dürfte. Es ist nun bemerkenswert, daß die beiden Gruppen der Kern- und Zellgifte sich völlig identisch erwiesen mit jenen Pharmaka, die zu einer Freisetzung von Histamin in den Hautzellen führen, bzw. bei denen eine Beeinflussung des Histamingehalts nicht stattfindet. In der folgenden Tabelle 18 sind die gemeinsam untersuchten Substanzen unter Benutzung der Angaben von Brock, Druckrey und Herken sowie unter Zufügung ihrer Wirksamkeit hinsichtlich der Änderung der Histaminwerte zusammengestellt.

Beim Veratrin ist wahrscheinlich nicht mit einer Freisetzung von Histamin im Gewebe zu rechnen. Eine sichere Entscheidung war nicht möglich, da die Extrakte noch die typische Veratrinwirkung besaßen,

[37] Best, C. H., u. E. W. Mac Henry: J. of Physiol. **70**, 349 (1930). — [38] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 679 (1939).

die durch Kreislaufschädigung eine quantitative Austestung zumindest in exakter Form unmöglich machte.

Bei den Versuchen mit Nikotin in 5%iger Lösung fand sich in einem Falle eine deutliche Vermehrung des Hauthistamingehalts (28 γ/g Haut). In zwei anderen Versuchen trat dagegen lediglich die blutdrucksteigernde Wirkung des Nikotins zutage. Es mußte daher auf eine genaue Abgrenzung der Nikotinwirkung verzichtet werden.

Tabelle 18.

Substanz	Notwendige Konzentration in ccm für (nach Versuchen von Brock, Druckrey und Herken)			Histaminfreisetzung (eigene Versuche
	I Stoffwechselwirkung	II Hemmung der Zellteilung	$\frac{\text{I}}{\text{II}}$	
Colchicin	>1500	1,5	1000	+
Nikotin	10000	165	60	
Coffein	>3000	500	>10	+
Emetin	100	5	20	+
Sublimat	30	1,5	20	+
Allylformiat	2000	200	10	+
Ammoniak	>n/25	~ n/250	10	+
Arsenik	100	150	0,7	–
Säuren	~ n/7000	~ n/500	~ 0,1	
Milchsäure				–
Ameisensäure				–
Trichloressigsäure				–
Veratrin	50	500	0,1	

Die Parallelität im Verhalten der angeführten Stoffe in bezug auf die Beeinflussung von Zellkern bzw. Protoplasma und der stattfindenden bzw. mangelnden Freisetzung von Histamin ist völlig gewahrt. Es erscheint daher die Annahme nicht absolut unbegründet, daß die Histaminentstehung im lebenden Gewebe an eine spezifische Beeinflussung des Kerns geknüpft ist.

Für diese Auffassung bieten eine Reihe von morphologischen Untersuchungen weitere Unterlagen. Hier sind zunächst die Arbeiten von Dustin[39] zu nennen, der überhaupt erstmalig am Beispiel des Colchicins den schädigenden Einfluß eines Pharmakons auf den Zellkern und den Ablauf der Zellteilungsvorgänge genauer beschrieb. Bucher[40], der das Colchicin in seiner Wirkung auf den Wachstumsrhythmus und die Zellteilungsvorgänge in Fibroblastenkulturen untersuchte, konnte bestätigen, daß bei diesem Gift die Cytoplasmaschädigung gegenüber der auffallenden Kernschädigung weit zurücktritt.

Als weitere Stütze für die eigene Auffassung läßt sich außerdem anführen, daß auch bei der Bestrahlung mit Ultraviolettlicht, bei der ebenfalls

[39] Dustin, A. P.: Arch. exper. Zellforsch. **22**, 395 (1939). — [40] Bucher, O.: Z. Zellforsch. usw. **29**, 283 (1938/39).

mit einer Freisetzung von Histamin zu rechnen ist, zunächst und vorwiegend die Kernsubstanzen der Zelle betroffen werden. So fanden Hamperl, Henschke und Schulze[41] 24 Stunden nach der Bestrahlung mit Ultraviolettlicht unter 320 mμ, daß die Färbbarkeit des Kerninhalts mit allen basischen Kernfarbstoffen fast vollkommen geschwunden ist. Die Kerne erscheinen dadurch als deutlich durch ihre Membran begrenzte leere Bläschen. Der Bestrahlungseffekt hat nach der Auffassung dieser Autoren vermutlich seinen Angriffspunkt an den Nucleinsäuren. Bei der Anwendung der Feulgenschen Nuclealreaktion ergab sich jedenfalls, daß die betroffenen Kerne nur ganz blaß und diffus gefärbt waren. In Übereinstimmung hierzu konnte Wels[42] am lebenden Ei der Flußmuschel im Dunkelfeld und Fluoreszenzbild beobachten, daß nach der Bestrahlung mit Ultraviolettlicht nur der Kerninhalt Veränderungen unterliegt, und zwar wird eine Koagulation des Eiweißes hervorgerufen, die nach dem Ausfall von Reagensglasversuchen an eine chemische Umwandlung des Eiweißmoleküls geknüpft ist. Weitere Stützen für die Annahme einer kernschädigenden Wirkung des Ultraviolettlichtes bieten eine Reihe von Untersuchungen an lebenden Gewebskulturen. Juul und Kemp[43] vertreten dabei auf Grund ihrer Befunde die Ansicht, daß der Bestrahlungseffekt hauptsächlich auf das Kernchromatin wirkt, während z. B. die Wirkung einer Erwärmung des Gewebes in erster Linie Protoplasmaveränderungen verschuldet. In gleicher Weise konnten auch v. Moellendorf und Laqueur[44] sowie Mayer[45] eine kernschädigende Wirkung des Ultraviolettlichtes an Kulturen von Fibroblasten und mesenchymalem Gewebe feststellen. In diesen Arbeiten ist aber mit Recht darauf hingewiesen, daß aus den gefundenen morphologischen Veränderungen der Kernbestandteile allein noch nicht unbedingt hervorgeht, daß der Kern wirklich auch der primär und einzig gestörte Anteil der Zellen ist.

Schließlich läßt sich noch von einer ganz anderen Seite aus ein letztes Argument zugunsten unserer Auffassung gewinnen. Dieses besteht in der Feststellung von Code[46], daß im nicht defibrinierten Blut von Mensch, Hund, Pferd, Rind und Ziege 70—100% der Histaminwirksamkeit in der beim Zentrifugieren sich ausbildenden Schicht, die aus Leukocyten und Blutplättchen besteht anzutreffen sind. Die Blutplättchen liefern dabei sehr wenig oder gar kein Histamin. Somit bleiben nur die weißen Blutkörperchen als Träger des Bluthistamins übrig. Durch die Darstellung und Isolierung des Histamins in kristallinischer Form aus den Leukocyten konnte Code und Ing[47] das Vorkommen des Histamins in diesen Zell-

---

[41] Hamperl, H., Henschke, U., u. R. Schulze: Virchows Arch. **304**, 19 (1939). — [42] Wels, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 113 (1938). — [43] Juul, J., u. T. Kemp: Strahlenther. **48**, 457 (1933). — [44] v. Moellendorf, W., u. G. Laqueur: Z. Zellforsch. **28**, 310 (1938). — [45] Mayer, E.: Arch. exper. Zellforsch. **16**, 23 (1934). — [46] Code, C. F.: Ebenda **90**, 349 (1935). — [47] Code, C. F., u. H. R. Ing: Ebenda **90**, 501 (1937).

formen einwandfrei bestätigen. Das bedeutet aber wiederum, daß nur die kernhaltigen Elemente des Blutes im wesentlichen für die Freisetzung des Histamins in Frage kommen. Nach den Angaben von Code[48] sowie Code und Mac Donald[19] sind allerdings nicht alle Gruppen der weißen Blutkörperchen gleichmäßig an der Freisetzung des Histamins beteiligt. Bei Vermehrung der Lymphocyten in Fällen von lymphatischer Leukämie fand sich keine Vermehrung des Bluthistamins, während bei myeloischer Leukämie wesentlich höhere Histaminwerte bestimmt werden konnten als bei normalen Menschen.

Alle diese Beobachtungen scheinen jedenfalls dafür zu sprechen, daß der Zellkern eine wesentliche Rolle für die Entstehung des Histamins in der Zelle spielt. Insbesondere dürfte dieser Vorgang beim Eintritt einer Kernschädigung oder auch nur Kernreizung unter dem Einfluß der verschiedenen Reizstoffe eintreten. Diese Annahme ist eigentlich auch ohne Schwierigkeiten mit den physiologisch-chemischen Vorstellungen vereinbar. Bekanntlich enthalten die im Kern vorkommenden Nucleoproteide reichlich Histone in salzartiger Verbindung mit den Nucleinsäuren. In der Zusammensetzung der Histone aus einfachen Aminsäuren nimmt auch das Histidin einen beträchtlichen Platz ein. Es wäre daher denkbar, zumal Wels[43] eine chemische Umwandlung der Eiweißmoleküle im Zellkern unter dem Einfluß von exogenen Reizen wahrscheinlich machen konnte, daß beim Eintritt einer Kernschädigung eine Beeinflussung der Nucleoproteide in Form einer Abspaltung von Eiweißkomponenten und sekundärer Freisetzung von Histamin erfolgt, und daß die Entstehung des Histamins seinerseits in den weiteren Ablauf des lokalen Geschehens bestimmend eingreift. Es braucht wohl nicht betont zu werden, daß mit den vorliegenden Untersuchungen die Frage nach der Herkunft des Histamins in der lebenden Zelle nicht als geklärt anzusehen ist. Als Arbeitshypothese dürfte die vorgetragene Auffassung jedoch vermutlich brauchbare Anhaltspunkte liefern, um einer Deutung des unter der Einwirkung von Reizstoffen ablaufenden Geschehens in der Zelle und der sekundär einsetzenden lokalen Regulationsvorgänge näherzukommen.

Zusammenfassung

Bei der Untersuchung einer größeren Anzahl von Reizstoffen unter gleichzeitiger Berücksichtigung der zeitlichen Einwirkungsdauer des Reizes konnte festgestellt werden, daß ein Teil dieser Substanzen beim Aufbringen auf die Haut in bestimmten Zeitabschnitten eine Zunahme des Histamingehalts bedingte, während andere trotz des Eintritts sichtbarer Hautveränderungen sich in bezug auf den Gehalt der Haut an Histamin nahezu oder völlig indifferent verhielten.

---

[48] Code, C. F.: J. Physiol. (Brit.) **90**, 485 (1935).

Die beiden Gruppen erwiesen sich im wesentlichen identisch einmal mit den sogenannten Hautreizstoffen und den entzündungserregenden Substanzen und andererseits mit den nekrotisierenden und zelltötenden Giften.

Das unterschiedliche Verhalten in der Beeinflussung des Histamingehalts steht vermutlich in Abhängigkeit von besonderen und getrennten Angriffspunkten der einzelnen Substanzen innerhalb der lebenden Zellen, und zwar in dem Sinne, daß die Substanzen, die eine Freisetzung von Histamin herbeiführen, in erster Linie eine Schädigung oder Reizung des Kerns bewirken. Bei der zweiten Gruppe, bei der eine Beeinflussung des Histamingehalts nicht stattfindet, dürfte es sich dagegen vorwiegend um Cytoplasmagifte handeln. Diese Auffassung stützt sich auf eine Reihe von Befunden, aus denen eine zellkern- bzw. protoplasmaschädigende Eigenschaft der innerhalb der beiden Gruppen stehenden Gifte hervorgeht. Es bedarf jedoch unbedingt weiterer Unterlagen, um diese Ansicht zu sichern. Sie kann daher vorläufig nur als Arbeitshypothese für weitere Untersuchungen gedacht sein.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg.
(Direktor: Prof. Dr. Ed. Keeser.)

Untersuchungen über die Beeinflußbarkeit des Purinstoffwechsels.

Von

Ed. Keeser.

(Eingegangen am 18. Dezember 1940.)

Die Untersuchung einer Reihe von Arzneimitteln, die erfahrungsgemäß bei der uratischen Diathese wirksam sind, ergab, daß durch sie die Aktivität der Uricase nicht beeinflußt wird. Dagegen trat nach Verabfolgung eines Brennesselauszugs eine starke Erhöhung des Blutharnsäurespiegels bei den Versuchstieren (Gänse, Enten) auf. Dieser Befund wurde von uns dahin gedeutet, daß entweder eine Ausschwemmung von Harnsäure aus dem Gewebe durch Schaffung geeigneter Lösungsbedingungen erfolgte oder Harnsäure infolge einer Aktivierung von Fermenten des Purinstoffwechsels in vermehrter Menge gebildet und in Freiheit gesetzt wurde[1]. Für die letztgenannte Möglichkeit sprechen Beobachtungen, wonach eine vermehrte Bildung von Harnsäure aus ihren Vorstufen bei der uratischen Diathese eine besondere Rolle spielt. So konnte Kühnau[2] zusammen mit Schiering experimentell nachweisen, daß sich die bei der Gicht bestehende Stoffwechselstörung auf die Vorstufen der Harnsäure erstreckt und im Blute des Gichtikers ein verstärkter Zerfall von Nukleotiden erfolgt, der durch Vitamin B_1 verhindert werden kann. Die genannten Autoren folgerten hieraus, daß Vitamin B_1 für den Umsatz der Nukleotide von Bedeutung ist sowie daß bei der Gicht ein relativer Mangel an B_1 bestehe.

In Fortsetzung unserer vorerwähnten Untersuchungen prüften wir den Einfluß verschiedener Arzneimittel auf die Aktivität der Nukleotidase und der Xanthindehydrase.

Bei der Wahl dieser Mittel ließen wir uns von den vorliegenden experimentellen und klinischen Beobachtungen leiten. Hiernach wirken auf Nukleotidase aktivierend Gallensäure[3], wobei bemerkenswert ist, daß endogene Harnsäure auch bei Schädigungen des Leberparenchyms in vermehrtem Umfang ausgeschieden wird[4], sowie Magnesium-Ionen[5], während Zufuhr von $CaCl_2$ die Ausscheidung von Harnsäure unter Verminderung

[1] Keeser, Ed.: Dtsch. med. Wschr. **1940**, S. 849. — [2] Kühnau, J., u. M. Schiering: Klin. Wschr. **1940**, S. 705. — [3] Kimura, T.: Biochem. J. **14**, 51 (1931). — [4] Galinowski, Z.: Polsk. Arch. Med. wewn. **13**, 278, 325 (1935). — [5] Deutsch, W., u. R. Laser: Z. physiol. Chem. **186**, 1 (1929).

der endogenen Harnsäurebildung herabsetzt[6]. Eine Steigerung der Ausscheidung von endogener Harnsäure wird ferner durch Glykokoll[7] bedingt, während Santonin nicht den Purinstoffwechsel selbst beeinflußt, sondern nur eine Ausschwemmung der Harnsäuredepots im Organismus bewirkt[8]. In der letztgenannten Weise scheinen nach den vorliegenden Befunden auch Salicylsäure[9], Atophan[10] und Adrenalin[11] zu wirken, wobei u. a. bei Atophan[12] eine Wirkung auf die Nieren, bei Adrenalin[13] eine solche auf das vegetative Nervensystem eine Rolle spielt. Dafür, daß der Harnsäurestoffwechsel auch vom vegetativen Nervensystem gesteuert wird, sprechen außer den genannten Befunden auch die Untersuchungsergebnisse von Tashiro[14] und Hajós[15]. — Vitamin B_1 wurde auf Grund der erwähnten Beobachtungen von Kühnau geprüft, Ascorbinsäure im Verfolg derjenigen von Argenteri und Ratti[16]. Schließlich wurde auch die Wirksamkeit von Histamin auf Nukleotidase und Xanthindehydrase untersucht, da bei der uratischen Diathese auch allergische Momente eine Rolle spielen können.

I.

Nukleotidase wurde nach der Methode von Klein[17] aus der Dünndarmschleimhaut von Kälbern gewonnen. Die so hergestellte Fermentlösung wurde im Verhältnis 1 : 10 mit 0,9%iger NaCl-Lösung verdünnt. Hiervon wurde jeweils 1 ccm zum Ansatz verwendet, der im übrigen folgende Zusammensetzung besaß: 1 ccm Fermentlösung, 8 ccm einer 1%igen Lösung von nucleinsaurem Natrium in Boratpuffer (p_H = 9,0) und 4 ccm einer 0,9%igen NaCl-Lösung bzw. einer Lösung der zu untersuchenden Substanz. Die Ansätze wurden einer Spaltungsdauer von $2^1/_2$ Stunden bei 37° unterworfen. Die Tabelle 1 zeigt das Ergebnis der Untersuchungen, wobei die während der Versuchsdauer erfolgte Zunahme an Phosphor einerseits in den als Kontrolle dienenden Ansätzen mit physiologischer Kochsalz-

[6] Rumpf, K.: Balneologe **1**, 539 (1934). — [7] Christman, A. A., u. E. C. Mosier: J. biol. Chem. (Am.) **83**, 11 (1929). — [8] Seel, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **159**, 589 (1931). — [9] Quick, A. J.: J. biol. Chem. (Am.) **98**, 157 (1932); **101**, 475 (1933); Gray, M. G., u. G. P. Grabfield: J. Pharmacol. (Am.) **52**, 383 (1934); Suzuki, H.: Fol. pharmacol. jap. **12**, 15 (1931); Yamagucki, J.: J. orient. Med. (Mandsch.) **15**, 8 (1931); Keijo J. Med. **2**, 543 (1931); Lublin, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **155**, 331 (1930). — [10] Ri, P. H.: Fol. pharmacol. jap. **13**, dtsch. Zusammenfass. **1** (1931); Lublin, A.: l. c.; Yamagucki: l. c.; Griesbach, W., u. B. C. Costopanagiotis: Z. Klin. Med. **125**, 42 (1933); Fürth, O., u. E. Edel: J. Pharmacol. (Am.) **53**, 105 (1935); Seel, H., u. G. Creuzberg: Z. exper. Med. **80**, 806 (1932); Grabfield, G. P., u. Mitarb.: J. Pharmacol. (Am.) **42**, 407 (1931); **50**, 123 (1934). — [11] Tashiro, K., Tôhoku J. exper. Med. (Jap.) **7**, 482 (1926); Franchini, A.: Arch. Fisiopatologica ecc. **4**, 247 (1936); Kuramoto, T.: J. Biochem. **17**, 1 (1933); Hajós, K., u. L. Kürti: Z. exper. Med. **46**, 625 (1925); Kimura, T.: l. c. — [12] Schroeder, H. O.: J. Pharmacol. (Am.) **46**, 461 (1932). — [13] Taubmann, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **129**, 43 (1928). — [14] Tashiro, K.: l. c. — [15] Hajós, K., u. L. Kürti: l. c. — [16] Argenteri, A., u. M. Ratti: ref. Münch. med. Wschr. **1939**, S. 1018. — [17] Klein, W.: Z. physiol. Chem. **207**, 127 (1932).

lösung, andererseits in den ein Arzneimittel enthaltenden Ansätzen einander gegenübergestellt wurde. Die Phosphormenge wurde nach der Methode von Myrbäck und Roche bestimmt.

Tabelle 1.

Untersuchte Substanz	Konzentration in mg %	Zunahme von P in mg pro Ansatz bei Zusatz von Na Cl (Kontrolle)	Von untersuchter Substanz
Gallensaures Natrium	38,4	0,294	0,357
Histamin	77	0,3913	0,4249
Glutathion	38,4	0,4585	0,4795
Natriumsalicylat	38,4	0,5705	0,5180
Vitamin C	770,—	0,798	0,679
Atophan	38,4	0,5005	0,5110
Colchicin	38,4	0,448	0,443
Piperazin	38,4	0,336	0,337

Wie Tabelle 1 zeigt, wurde in den untersuchten Konzentrationen die Aktivität der Nukleotidase gefördert durch gallensaures Natrium, Histamin und Glutathion, gehemmt durch Vitamin C und Natriumsalicylat, während sich Atophan, Colchicin und Piperazin als wirkungslos erwiesen.

Um einen Einblick in die Verhältnisse beim Menschen zu gewinnen, wurde weiter die Beeinflußbarkeit der Aktivität der Nukleotidase in menschlichem Serum geprüft ($p_H = 7{,}8$) und hierbei folgendes gefunden:

Tabelle 2.

Untersuchte Substanz	Konzentration in mg %	Zunahme von P in mg pro Ansatz bei Zusatz von Na Cl (Kontrolle)	Von untersuchter Substanz
Gallensaures Natrium	77	0,1652	0,1957
Histamin	77	0,1652	0,1955
Natriumsalicylat	77	0,2604	0,2226
Atophan	77	0,2604	0,1393
Colchicin	77	0,2604	0,1890
Vitamin C	770	0,322	0,287
Vitamin B_1	1,1	0,322	0,287
$CaCl_2$	50	0,570	0,447
$MgCl_2$	50	0,570	0,576

Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, wurde unter den genannten Bedingungen die Aktivität der Nukleotidase im menschlichen Serum

gefördert durch gallensaures Natrium und Histamin,

gehemmt durch Natriumsalicylat, Atophan, Colchicin, Calciumchlorid, Vitamin C (Cebion) und Vitamin B_1 (Betabion). Bei diesen Befunden, die in mehrfachen Wiederholungen bestätigt wurden, erscheint vom Stand-

punkt der vergleichenden Pharmakologie besonders interessant, daß Atophan und Colchicin sich der Nukleotidase des menschlichen Serums gegenüber als wirksam erwiesen, während sie diejenige der Dünndarmschleimhaut von Kälbern, bei denen der Purinstoffwechsel anders abläuft als beim Menschen, nicht beeinflußten.

II.

Weiter wurde die Beeinflußbarkeit der Xanthindehydrase nach dem Verfahren bestimmt, das von Reindel und Schuler[18] angegeben wurde. Es wurden sofort nach der Tötung von jungen Meerschweinchen mit dem Rasiermesser Leberschnitte hergestellt, die nicht über 0.5 mm dick waren und etwa 400 mg wogen. Die Schnitte wurden in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, dann zum Ansatz in Schliffkölbchen hinzugegeben und 2 Stunden bei 37° geschüttelt. Als Lösungsmittel diente Phosphatpuffer vom $p_H = 8{,}0-8{,}3$; bei der Untersuchung von Calcium und Magnesium wurde Boratpuffer verwendet. Die Xanthinkonzentration betrug in allen Ansätzen 10 mg%. Für jeden Versuch wurden folgende Ansätze hergestellt:

1. 10 ccm Pufferlösung + Leber + 1 ccm H_2O.
2. 10 ccm Xanthinlösung (in Puffer gelöst) + Leber + 1 ccm H_2O.
3. 10 ccm Xanthinlösung + Leber + 1 ccm der gelösten zu untersuchenden Substanz.
4. 10 ccm Pufferlösung + Leber + 1 ccm der gelösten zu untersuchenden Substanz.

Die Harnsäure wurde nach dem Verfahren von Spiera[19] bestimmt. Hierbei ergab sich folgendes:

Gegenüber dem Wert der Kontrolle zeigten sich folgende Differenzen:

		Zunahme um:
1 a:	Bei Xanthinzusatz	3,99 mg% U
b:	„ „ + Atophan (50 mg%)	2,36 „ U
2 a:	Bei Xanthinzusatz	8,53 mg% U
b:	„ „ + Colchicin (50 mg%)	6,59 „ U
3 a:	Bei Xanthinzusatz	4,20 mg% U
b:	„ „ + Histamin (50 mg%)	5,94 „ U
4 a:	Bei Xanthinzusatz	5,59 mg% U
b:	„ „ + gallensaures Natrium (50 mg%)	6,06 „ U
5 a:	Bei Xanthinzusatz	3,02 mg% U
b:	„ „ + Natr. salicyl. (50 mg%)	3,53 „ U
6 a:	Bei Xanthinzusatz	3,25 mg% U
b:	„ „ + Tonhormon (0,5 ccm i. Ans.)	3,41 „ U
7 a:	Bei Xanthinzusatz	4,06 mg% U
b:	„ „ + Natr. benzoic. (50 mg%)	4,06 „ U

[18] Reindel, W., u. W. Schuler: Z. physiol. Chem. **247**, 177 (1937). — [19] Spiera, M.: Klin. Wschr. **1937**, S. 1799.

		Zunahme um:
8 a:	Bei Xanthinzusatz	4,50 mg% U
b:	„ „ + Atropin (50 mg%)	4,04 „ U
9 a:	Bei Xanthinzusatz	3,81 mg% U
b:	„ „ + Glykokoll (50 mg%)	3,56 „ U
10 a:	Bei Xanthinzusatz	1,02 mg% U
b:	„ „ + Santonin (in ges. Lösung)	1,02 „ U
11 a:	Bei Xanthinzusatz	3,17 mg% U
b:	„ „ + $MgCl_2$ (75 mg%)	3,17 „ U
12 a:	Bei Xanthinzusatz	4,50 mg% U
b:	„ „ + $CaCl_2$ (50 mg%)	5,42 „ U
c:	„ „	3,21 „ U
d:	„ „ + $CaCl_2$ (50 mg%)	5,34 „ U
e:	„ „	4,40 „ U
f:	„ „ + $CaCl_2$ (150 mg%)	7,03 „ U

Es ist bereits bekannt, daß die Xanthindehydrase, die Xanthin bzw. Hypoxanthin in Harnsäure überführt, gehemmt wird durch p-Aminophenol[20], Blausäure[21], Jodnatrium und Bromnatrium[22] sowie u. U. durch Harnsäure[23], dagegen wird sie aktiviert durch Gallensäure[24], Radiumemanation[25] sowie durch sehr kleine Mengen Wasserstoffsuperoxyd, das in größeren Konzentrationen unter Zerstörung des Ferments hemmend wirkt[26]. H_2O_2 entsteht bei der Oxydation von Purinbasen durch molekularen Sauerstoff in Gegenwart von Xanthindehydrase; die auf diese Weise mögliche Zerstörung des Ferments wird durch Katalase verhindert, die somit eine Schutzwirkung ausübt[27]. Nach dem Ergebnis unserer Untersuchungen wird Xanthindehydrase aktiviert durch gallensaures Natrium, Histamin, Natriumsalicylat und Calciumchlorid, sowie — etwas — durch Tonhormon, gehemmt durch Atophan, Colchicin sowie — etwas — durch Atropin und Glykokoll.

Bei Zusatz von Vitamin C sowie — in geringerem Maße — von Vitamin B_1 zeigte sich, daß infolge der Sauerstoffempfindlichkeit dieser Substanzen offenbar Reaktionen mit den in den Leberschnitten enthaltenen leicht reduzierbaren Verbindungen erfolgen. Die so entstehenden Reduktionsprodukte wirkten anscheinend auf das bei der Bestimmung der Harnsäure verwendete Kaliumferricyanid so ein, daß ein größerer Verbrauch von Kaliumferricyanid eintrat und so ein höherer Harnsäuregehalt vorgetäuscht wurde. Die Wirksamkeit dieser beiden Vitamine auf die Xanthindehydrase in vivo zu prüfen, erscheint deshalb nicht möglich,

---

[20] Bernheim, F., u. M. L. C. Bernheim: J. biol. Chem. (Am.) **123**, 307 (1938). — [21] Dixon, M., u. D. Keilin: Proc. roy. Soc. Lond. **119**, 159 (1936). — [22] Oppenheimer, Fermente II, S. 1730. — [23] Harrison, D. C.: Biochemic. J. (Brit.) **26**, 472 (1932). — [24] Takeuti, N.: Okayama-Igakkai-Zasshi **49**, 2133, 2357 (1937). — [25] Oppenheimer, Fermente II, S. 1730. — [26] Bernheim, F., u. M. Dixon: Biochem. J. (Brit.) **22**, 113 (1928). — [27] Dixon, M.: Biochem. J. (Brit.) **19**, 507 (1925).

weil etwaige Änderungen des Spiegels der Blutharnsäure auch der Ausdruck einer Beeinflussung der Nukleotidase sein können.

Schließlich erscheint beachtenswert, daß auch der nach den Angaben von Krause hergestellte Dreistoffkatalysator[28] in 76,8 mg%iger Konzentration Nukleotidase stark hemmte: Bei $p_H = 9{,}0$ wurden nur 0,0228 mg P (gegenüber 0,0744 mg P in der Kontrolle) und bei $p_H = 6{,}5$ nur 0,015 mg (gegenüber 0,08 mg P in der Kontrolle) in Freiheit gesetzt. — Auf Xanthin (ohne Fermentzusatz) hatte der Dreistoffkatalysator keinen Einfluß.

Zusammenfassung.

1. Aus der Dünndarmschleimhaut von Kälbern hergestellte Nukleotidase wurde durch gallensaures Natrium, Glutathion und Histamin aktiviert, durch Natriumsalicylat und Ascorbinsäure gehemmt, während sich Atophan und Colchicin als wirkungslos erwiesen.

2. Die Aktivität der Nukleotidase des menschlichen Blutserums wurde durch gallensaures Natrium und Histamin gefördert, durch Natriumsalicylat, Calciumchlorid und Ascorbinsäure gehemmt; außerdem übten auch Vitamin B_1, Atophan und Colchicin einen hemmenden Einfluß auf sie aus.

3. Die in der Leber von Meerschweinchen enthaltene Xanthindehydrase wurde aktiviert durch gallensaures Natrium, salicylsaures Natrium, $CaCl_2$, Histamin sowie durch Tonhormon, gehemmt durch Atophan, Colchicin und — in geringerem Grade — durch Atropin und Glykokoll.

4. Die geschilderten Untersuchungen, die unsere Kenntnisse über die Wirkungsweise der vorgenannten Mittel auf den Harnsäurestoffwechsel erweitern, bieten Hinweise für die Therapie.

[28] Krause, A.: Ber. dtsch. chem. Ges. **72**, 161 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Hansischen Universität Hamburg.

Zur Wirkungsweise des Theophyllins.

I. Mitteilung.

Von

H.-A. Oelkers.

(Eingegangen am 16. Dezember 1940.)

Unter den Purinderivaten wurde Theophyllin im Gegensatz zum Coffein und auch zum Theobromin verhältnismäßig wenig pharmakologisch untersucht (vgl. z. B. die zusammenfassende Darstellung von Bock[1]). Insbesondere sind die Untersuchungen über etwaige pharmakologische Wirkungsänderungen durch die als Lösungsmittel für Theophyllin gebrauchten Amine Äthylendiamin und Diäthanolamin verhältnismäßig spärlich. Die wenigen Arbeiten, die bisher hierüber vorliegen und auf die weiter unten näher eingegangen werden soll, sprechen indessen dafür, daß diese Amine nicht nur die Wasserlöslichkeit des Theophyllins erhöhen, sondern z. T. erhebliche pharmakologische Wirkungsänderungen hervorrufen. Präparate, in denen die genannten Amine als Lösungsvermittler des Theophyllins dienen, haben nun in den letzten Jahren zunehmend die früher vielgebrauchten Doppelsalze dieses Purinkörpers, wie z. B. Theophyllino-Natrium aceticum, und auch das reine Theophyllin selbst, weitgehend aus der Therapie verdrängt. Es soll daher im folgenden kurz über die bisherigen Ergebnisse von vergleichenden Untersuchungen einiger dieser Theophyllinpräparate berichtet werden.

Zur Untersuchung kamen außer dem zum Vergleich herangezogenen Theophyllino-Natrium aceticum, dem bekannten Doppelsalz des Theophyllinnatriums mit Natriumacetat, von der Formel $C_7H_7NaN_4O_2 + C_2H_3NaO_2$, das einen Theophyllingehalt von rund 70% besitzt, die Präparate Euphyllin, Novophyllin und Deriphyllin. Hiervon sind Euphyllin und Novophyllin Verbindungen des Theophyllins mit Äthylendiamin, und zwar enthält Euphyllin 78% Theophyllin und 22% Äthylendiamin; Novophyllin 72% Theophyllin, 18% Äthylendiamin und 10% Luminal. Deriphyllin, in dem Diäthanolamin als Lösungsvermittler dient, enthält zu gleichen Teilen Theophyllin und Diäthanolamin.

Von den chemischen Eigenschaften dieser drei Präparate, die außer zu intravenösen auch zu intramuskulären Injektionen dienen und die z. T. auch als Tropfen, Tabletten und Zäpfchen im Handel sind, ist bemerkenswert, daß sie alle verhältnismäßig stark alkalisch reagieren (der p_H dieser

[1] Bock, J.: Heffters Handb. ges. exper. Pharm. II, **1**, 508 (1920).

Präparate beträgt in ziemlich guter Übereinstimmung 10,5—11,1). Dem entspricht das Auftreten von Nekrosen (Laugennekrosen) bei versehentlicher paravenöser oder bei subcutaner Injektion der Präparate. Der Zusatz weniger Tropfen z. B. der Euphyllin-Ampullen zu 2 ccm (2 ccm mit 0,48 g Euphyllin) zu defibriniertem Blut führt ferner in verhältnismäßig kurzer Zeit zu Hämolyse und Auftreten einer bräunlich-schwärzlichen Verfärbung des Blutes (1 ccm der Lösung verbraucht zur Neutralisation gegen Methylrot 1,58 ccm 1 n HCl).

Die genannten Präparate wurden nun zunächst hinsichtlich ihrer Toxizität bei subcutaner Injektion miteinander verglichen. Als Versuchstiere dienten weiße Mäuse, die durchschnittlich 15 g (13—18 g) schwer waren. Von den zu untersuchenden Präparaten wurden Lösungen hergestellt, die einem Gehalt an Theophyllin von 0,5% entsprachen. Diese Lösungen wurden dann in verschiedenen Dosen mittels einer besonders langen und dünnen Spezialkanüle aus einer in 0,01 ccm unterteilten Injektionsspritze so unter die Rückenhaut gespritzt, daß ein Herauslaufen der Injektionsflüssigkeit unmöglich war. (Einstich in der Schwanzwurzelgegend und Hindurchführen der Kanülenspitze bis in die Nackengegend). Jede Dosis wurde mindestens 4, meist 8 oder 10 Mäusen verabfolgt. Die Tabelle 1 gibt die Ergebnisse dieser Versuche wieder.

Tabelle 1.

	Theoph. natr. acet. mg Theoph./g	Euphyllin mg Theoph./g	Novophyllin mg Theoph./g	Deriphyllin mg Theoph./g
Mittlere letale Dosis	0,20	0,14	0,16	0,15
Sichere letale Dosis	0,26	0,19	0,21	0,20

Aus der Tabelle geht hervor, daß — bezogen auf den Gehalt an Theophyllin — Euphyllin die höchste, Theophyllino-Natrium aceticum die geringste Giftigkeit aufweist. Die beiden übrigen Präparate sind etwas weniger giftig als Euphyllin, doch ist der Unterschied nur gering. Die letale Dosis des Theophyllins wird also durch den Zusatz von Äthylendiamin oder von Diäthanolamin um etwa 20—25% herabgesetzt.

An Vergiftungserscheinungen trat bald nach der Injektion der Präparate eine gewisse Unruhe der Tiere auf. Bei den Tieren, die Euphyllin, und weniger deutlich auch bei denen, die Novophyllin erhalten hatten, fand sich meist ein ausgesprochener Bewegungsdrang, der aber später wieder nachließ. Etwa 20–30 Minuten nach der Injektion saßen die Mäuse in einer eigenartig aufgerichteten Stellung, wobei sie sich häufig an die Käfigwand anlehnten, ruhig da. Die Augen wurden geschlossen gehalten und auch auf akustische und Schmerzreize hin nicht geöffnet. Die Reflexe waren leicht gesteigert. Später machten sich Lähmungserscheinungen geltend. Der Tod erfolgte frühestens 45 Minuten nach der

Injektion nach einem plötzlich auftretenden und nur wenige Sekunden andauerndem tetanischen Krampfanfall. In wenigen Fällen gingen dem Tetanus ebenfalls nur ganz kurzdauernde und verhältnismäßig sehr leichte epileptiforme Krämpfe voran. Mitunter starben die Tiere völlig unbemerkt in einem Stadium starker Benommenheit etwa 1—2 Stunden nach der Injektion der untersuchten Präparate. Häufig fiel eine Cyanose an Schwanz, Schnauze und Ohren der Tiere auf.

Zum Vergleich wurden einige Versuche mit Theobromin und Coffein vorgenommen. Hierbei zeigte es sich, daß Theobromin erheblich weniger giftig ist als Theophyllin, während Coffein annähernd die gleiche Giftigkeit wie Theophyllin besitzt.

Für die Versuche mit Theobromin wurde eine 0,632%ige Lösung von Theobromino-Natrium aceticum hergestellt, was durch langsames Erhitzen ohne Schwierigkeit gelingt. Die Lösung, die einen Theobromingehalt von 0,4% besitzt, fällt allerdings beim Abkühlen wieder aus und muß daher noch warm (etwa 40°) injiziert werden. Die gefährlichen Dosen beginnen für durchschnittlich 15 g schwere Mäuse bei 0,4 mg Theobromin pro g Maus. Die mittlere letale Dosis betrug 0,48—0,5 mg/g, die sicher letale Dosis 0,6 mg/g.

Ein Vergleich mit der Tabelle 1 zeigt, daß Theophyllin fast $2^1/_2$mal giftiger ist als Theobromin. Der Vergiftungsverlauf ist jedoch bei Theobromin ganz ähnlich wie bei Theophyllin: Auch hier werden die Tiere zunächst etwas unruhig und sitzen später längere Zeit mit erhobenem Kopf und geschlossenen Augen still da. Danach tritt ein Stadium der Erschlaffung ein, in dem die Tiere ruhig, aber vielleicht etwas angestrengt atmend daliegen. Der Tod tritt dann plötzlich nach einem kurzdauernden Tetanus, dem mitunter einige epileptoide Zuckungen vorangehen, ein.

In einigen Fällen wurde der Theobrominlösung eine kleine Menge Äthylendiamin (40—50 mg) zugesetzt, um das Ausfallen bei dem Abkühlen auf Zimmertemperatur zu verhindern. Dies gelang jedoch nicht völlig.

Bei den mit dieser Lösung angestellten Versuchen fiel auf, daß die Mäuse einige Zeit nach der Injektion eine deutliche Unruhe und z. T. auch Bewegungsdrang, ähnlich wie die mit Euphyllin behandelten Tiere zeigten. Dieser Befund erscheint deswegen bemerkenswert, weil Äthylendiamin in den entsprechenden Dosen und auch in etwas höheren keine Symptome von Erregung oder Bewegungsdrang verursacht, wie später zu schildernde Versuche zeigten.

Die Toxizitätsprüfungen von Coffein wurden mit Coffeinhydrochlorid vorgenommen, von dem eine 0,88%ige Lösung, entsprechend 0,75% Coffein ($C_8H_{10}N_4O_2 + H_2O$), hergestellt wurde. Die gefährlichen Dosen bei der subcutanen Injektion begannen bei 0,20 mg Coffein pro g Maus. Als mittlere letale Dosis sind indessen für durchschnittlich 15 g schwere Mäuse erst 0,26 mg und als sichere letale Dosis 0,32 mg Coffein pro g Körpergewicht anzusehen. Bei einigen orientierenden Versuchen mit

Coffeinum-Natrium salicylium (1,59%ige Lösung), entsprechend 0,75% Coffein ($C_8H_{10}N_4O_2 + H_2O$) waren die letalen Dosen etwas kleiner. Die mittlere letale Dosis betrug 0.2 und die sichere letale Dosis 0,24 mg Coffein pro g Maus.

Die Vergiftungssymptome entsprachen im wesentlichen denen des Theophyllins. Allerdings waren die Tiere kurz nach der Injektion etwas stärker erregt und zeigten einen starken Bewegungsdrang (ähnlich wie bei den Versuchen mit Euphyllin). Später aber saßen die Mäuse ebenfalls ruhig da. Auch hier fiel die Neigung, den Kopf nach oben gestreckt und die Augen geschlossen zu halten, auf. Zum Unterschied von den Versuchen mit Theobromin und Theophyllin traten hier gelegentlich kurzdauernde und leichte epileptiforme oder tetanische Krämpfe schon einige Zeit vor dem Tode auf. Die Tiere, die Coffeinum-Natrium salicylicum erhalten hatten, zeigten sich stärker erregt und hatten etwas schwerere und länger anhaltende Krämpfe als die mit Coffeinhydrochlorid behandelten Tiere. Die Giftigkeitssteigerung dieses Salzes erklärt sich wohl dadurch, daß auch Natrium salicylicum in den entsprechenden Dosen bereits giftig wirkt. Bei einigen orientierenden Versuchen wirkte Natrium salicylicum ab 0,3 mg/g toxisch. Als letal sind allerdings erst Dosen von 0.6—0.7 mg pro g Maus anzusehen.

Aus der Tabelle 1 geht hervor, daß Novophyllin etwas weniger giftig ist als Euphyllin. Da die Zusammensetzung der beiden Präparate bis auf den Luminalgehalt des Novophyllins weitgehend übereinstimmt, so war anzunehmen, daß das Theophyllin durch Luminal etwas entgiftet wird.

Dies scheint auch zuzutreffen, denn von 10 Mäusen, die die mittlere letale Theophyllindosis (0,2 mg/g Maus) in Form von Theophyllino-Natrium aceticum und gleichzeitig 0.01—0,03 mg Luminal pro g Körpergewicht subcutan erhalten hatten, blieben alle am Leben. Die sichere letale Theophyllindosis (0,26 mg/g) wurde jedoch in einigen weiteren Versuchsreihen trotz Luminalbehandlung nur ganz selten (in etwa 15% der Fälle) überlebt. Die Versuche sprechen aber doch dafür, daß eine gewisse Entgiftung von Theophyllin durch Luminal möglich ist, und stehen somit in ganz guter Übereinstimmung mit Beobachtungen von Dreser[2]) bei Katzen.

Die zentralerregende Wirkung des Theophyllins ist bei normalen Mäusen nicht besonders gut zu beobachten. Sie tritt aber bei diesen Tieren deutlich in Erscheinung, wenn man ihnen zunächst ein Narkoticum verabfolgt. Theophyllin besitzt dann eine ausgesprochene Weckwirkung, wie sich z. B. bei einigen Versuchsreihen mit Luminal zeigen ließ.

Die 14—18 g schweren Mäuse erhielten bei diesen Versuchen zunächst 0,5 ccm einer 0,2%igen Luminallösung (200 mg Luminal wurden zunächst in 5—6 ccm Methylacetamid gelöst und diese Lösung dann mit 0,6%iger

[2] Dreser, H.: Arch. ges. Physiol. **102**, 1 (1904).

Kochsalzlösung auf 100,0 ccm gebracht) pro 10 g Gewicht (0,01 mg Luminal pro g Maus). Dieses Dosis führt nach einem Exzitationsstadium mit ausgesprochenem Bewegungsdrang im Verlauf von etwa $^1/_2$ Stunde zu tiefem Schlaf und sich rasch verstärkender Narkose, die viele Stunden (bis zu 15 Stunden) anzuhalten pflegt. Ein Teil der Mäuse (etwa 35 %) erholt sich nach dieser Dosis bereits nicht mehr und geht im Verlauf von 24—48 Stunden in tiefer Narkose ein. Verabfolgt man derartig vorbehandelten Mäusen 2—3 Stunden nach der Luminalinjektion eine größere Theophyllindosis (0,03—0,1 mg/g), so wird die Narkose unterbrochen und die Mäuse bewegen sich stark ataktisch in ihrem Käfig umher. Ein Teil der Tiere erholt sich dann ziemlich rasch, der größere Teil sinkt wieder in den narkotischen Zustand zurück, reagiert jedoch noch auf Schmerzreize durch Umherkriechen und macht erst wieder nach 24 Stunden einen normalen Eindruck.

In einer weiteren Versuchsreihe erhielten die Mäuse 0,6 ccm der 0,2 %igen Luminallösung pro 10 g Gewicht (= 0,12 mg Luminal pro g Maus). Diese Dosis führt, ebenfalls nach einem Exzitationsstadium, rasch zu tiefer Narkose, aus der die Tiere nicht wieder erwachen, sondern im Verlauf von 24—48 Stunden zugrunde gehen. Durch Verabfolgung von Theophyllin (0,05—0,15 mg/g) in Form von Theophyllino-Natrium aceticum, Deriphyllin oder Euphyllin gelingt es auch hier, die Narkosetiefe vorübergehend deutlich herabzusetzen. Bei mehrmaliger Verabfolgung von Theophyllin (in Abständen von 6—8 Stunden je 0,05—0,1 mg/g) war es sogar möglich, einen Teil der Tiere (20 %) am Leben zu erhalten.

Bei Versuchen mit kleineren Dosen von Luminal (0,05—0,06 mg/g), die nur zu einer leichten Narkose führen, in der die Tiere noch auf Schmerzreize durch Abwehrbewegungen reagieren, gelingt es, bereits durch die subcutane Injektion verhältnismäßig kleiner Theophyllindosen (0,01 bis 0,03 mg/g), $1^1/_2$—2 Stunden nach der Luminalgabe verabfolgt, die Tiere rasch aufzuwecken. Die Kontrolltiere, die nur Luminal erhalten hatten, schliefen noch weitere 3—4 Stunden.

Es wurden ferner Versuche gemacht, bei normalen Mäusen die zentralerregende Wirkung kleinerer Theophyllindosen nachzuweisen und zu prüfen, ob die verschiedenen Theophyllinpräparate hierbei Unterschiede aufweisen. Es zeigte sich, daß zur Entscheidung derartiger Fragen ein kürzlich von Forst[3] angegebenes Verfahren recht gut geeignet ist. Bei dieser Methode wird die Lauftätigkeit von Mäusen, die sich auf einem Kippteller frei bewegen können, quantitativ registriert.

Wie von Forst ausführlich beschrieben, ist die Motilität normaler Mäuse zwar quantitativ verschieden, zeigt aber doch gewisse Gesetzmäßigkeiten, indem z. B. regelmäßig nach anfänglicher Unruhe während der ersten und oftmals auch noch der zweiten Viertelstunde des Versuches zunehmende Beruhigung mit zeitweiliger Schlafneigung der Tiere eintritt.

[3] Forst, A. W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 257 (1938)

Die Verabfolgung von Theophyllin in Mengen von 0,01—0,05 mg/g und in der Form des Theophyllino-Natrium aceticum oder des Deriphyllins hat im wesentlichen nur den Einfluß, daß die Lauftätigkeit der Tiere nicht, wie es normalerweise der Fall ist, nach der ersten Viertelstunde etwas und nach der zweiten Viertelstunde stark abnimmt, sondern sie bleibt ungefähr 1—2 Stunden lang die gleiche wie zu Versuchsbeginn und steigt mitunter sogar noch etwas an. Dabei wurden aber nur sehr selten etwas höhere Werte erhalten, als man sie bei normalen Mäusen in der ersten Viertelstunde des Versuches durchschnittlich zu finden pflegt.

Die gleichen Theophyllindosen in der Form von Euphyllin gegeben, führten eigenartigerweise bei fast allen Tieren zu einem ausgesprochenen Bewegungsdrang, der ungefähr 10 Minuten nach der subcutanen Injektion begann und etwa $1^1/_2$ Stunde ziemlich unverändert anzuhalten pflegte. Hierbei wurden Viertelstunden-Mittelwerte von 10—18 (siehe bei Forst) erhalten. Bei den entsprechenden Versuchen mit Novophyllin war nur während der ersten 2—3 Viertelstunden ein stärkerer Bewegungsdrang festzustellen.

Die Untersuchungsergebnisse sprechen also dafür, daß Äthylendiamin im Gegensatz zum Diäthanolamin die zentralerregende Wirkung des Theophyllins verstärkt, indem es die Neigung der Tiere, umherzulaufen, fördert.

Bei einigen daraufhin mit Äthylendiaminlösungen von entsprechender Konzentration vorgenommenen Versuchen konnte jedoch niemals ein sicherer Einfluß auf die Motilität der Mäuse festgestellt werden. Es trat sogar eher eine leichte Beruhigung der Tiere ein.

Zum Vergleich wurden ferner einige Versuche mit Theobromino-Natrium aceticum vorgenommen. Dosen von 0,02—0,06 mg Theobromin pro g Maus hemmten ähnlich, aber schwächer und unzuverlässiger wie bei den Versuchen mit Theophyllino-Natrium aceticum das sonst übliche starke Nachlassen der spontanen Beweglichkeit nach den ersten beiden Viertelstunden des Versuches. Coffein in der Form von Coffeinum hydrochloricum und in Dosen von 0,01—0,05 mg/g Maus wirkte bei weitem stärker und verhältnismäßig sicher.

In weiteren Versuchsreihen wurden die verschiedenen Theophyllinverbindungen hinsichtlich ihrer diuretischen Wirksamkeit miteinander verglichen.

Chabrol, Cottet und Sallet[4] fanden kürzlich in Versuchen an Hunden, daß Diäthanolamin ausgesprochen diuretisch wirkt. Es war daher zu erwarten, daß die Verbindung des Theophyllins mit Diäthanolamin (Deriphyllin) stärker harnreibend wirken würde, als es ihrem Theophyllingehalt entspricht. Die unten zu schildernden Untersuchungen

[4] Chabrol, E., J. Cottet u. J. Sallet: C. r. Séances de la Société de Biol. Paris **131**, 637 (1939).

bestätigten diese Vermutung und zeigten, daß auch durch die Verbindung des Theophyllins mit Äthylendiamin (Euphyllin, Novophyllin) eine erhebliche Steigerung der diuretischen Wirkung des Theophyllins erzielt wird.

Die Versuche wurden an Mäusen nach der Methode von Bonsmann[5] durchgeführt, die sich auch bei anderen Untersuchern (vgl. Vollmer und Hindemith[6]) bereits bewährte.

Für die Untersuchung der verschiedenen Theophyllinpräparate wurde eine große Zahl (insgesamt 60) von Gruppen zu je 6 männlichen Mäusen von etwa 18—20 g Gewicht zusammengestellt. Die Tiere erhielten als Nahrung ein Gemisch von Haferflocken und Hafer und konnten beliebig viel Wasser trinken. Einige Gruppen (10), die ausschließlich mit Hirse ernährt wurden, lieferten verhältnismäßig große Urinmengen, zeigten aber ebenso wie weitere Mäusegruppen, die ausschließlich Hafer als Nahrung bekamen, kein abweichendes Verhalten gegen die geprüften Theophyllinpräparate.

Wie bei den Versuchen von Bonsmann[5] wurde den Tieren 2 Stunden vor dem Versuch Wasser und Futter entzogen. Dann wurde den Tieren die Blase ausgedrückt und nach Injektion der zu prüfenden Substanz, die in 0,3%iger Kochsalzlösung gelöst wurde, jede Gruppe für 4 Stunden in einen kleinen Stoffwechselkäfig gesetzt. Darauf wurde die Blase wieder ausgedrückt und die Gesamtharnmenge jeder Gruppe gemessen. Da die Fehlermöglichkeiten durch Haftenbleiben von Harntropfen am Boden des Stoffwechselkäfigs bei kleinen Urinmengen verhältnismäßig groß sein können, wurden die Diuretica den Tieren nicht in 0,2 ccm 0,2%iger, sondern in 0,5 ccm 0,3%iger Kochsalzlösung gelöst subcutan injiziert. Das größere Volumen ermöglichte es außerdem, eine stärkere Verdünnung der mit Äthylendiamin und Diäthanolamin hergestellten Präparate vorzunehmen. Dadurch konnten stärkere Gewebsschädigungen und die Bildung umfangreicher Nekrosen, die die mehrfache Benutzung der Versuchstiere ausgeschlossen hätten, vermieden werden.

Jede Gruppe wurde nur alle 8—10 Tage zum Versuch herangezogen.

Die Tabelle 2 gibt zunächst Versuche an 16 Mäusegruppen wieder, bei denen die diuretische Wirkung von Theophyllin-Diäthanolamin (Deriphyllin) mit der von Theophyllino-Natrium aceticum verglichen wurde. Unter „Normalausscheidung" wurden die Urinmengen (Mittel aus 2—3 Versuchen) wiedergegeben, die nach subcutaner Injektion von 0,5 ccm der 0,3%igen Kochsalzlösung erhalten wurden. Man erkennt, daß die Normalausscheidung bei diesen Gruppen zwischen 1,0 und 1,7 ccm beträgt. Die bei den Wiederholungen des Normalversuchs für jede Gruppe gefundenen Werte schwankten indessen nur um $\pm$ 0,1—0,2 ccm.

---

[5] Bonsmann, M. R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **175**, 322 (1934). — [6] Vollmer, H., u. H. Hindemith: Ebenda **186**, 565 (1937).

Tabelle 2.

Gruppe	Normale Ausscheidung ccm Urin	Deriphyllin Theophyllin-Diäthanolamin			Theophyllino-Natrium aceticum			
		50 mg% Theoph. ccm Urin	30 mg% Theoph. ccm Urin	20 mg% Theoph ccm Urin	80 mg% Theoph. ccm Urin	50 mg% Theoph. ccm Urin	40 mg% Theoph. ccm Urin	30 mg% Theoph. ccm Urin
1	1,2	1,9	—	1,4	2,0	—	—	1,3
2	1,4	2,9	—	1,5	2,6	—	—	1,5
3	1,5	3,0	—	1,7	2,9	—	—	1,3
4	1,4	2,5	—	1,5	—	—	1,9	1,4
5	1,0	1,9	—	1,4	1,8	—	1,7	1,3
6	1,2	1,9	—	1,2	2,0	—	1,7	1,1
7	1,5	2,8	—	—	—	2,1	1,9	—
8	1,6	2,9	—	—	—	2,3	2,0	—
9	1,0	2,2	1,8	1,4	—	1,7	—	—
10	1,2	2,5	2,0	1,5	—	2,1	—	—
11	1,5	3,1	2,7	1,7	—	2,3	—	1,4
12	1,3	—	2,1	1,6	—	1,8	—	1,4
13	1,5	—	2,3	—	—	2,2	—	1,7
14	1,7	—	2,8	—	3,2	2,7	—	—
15	1,0	—	1,9	—	2,1	1,7	—	—
16	1,2	—	2,0	—	2,2	1,9	—	—

Die Tabelle 2 zeigt weiter, daß die Verwendung einer 50 mg% Theophyllin in der Form von Deriphyllin enthaltenden Lösung dazu führte, daß die normalen Urinmengen ungefähr verdoppelt wurden (pro Maus wurden hierbei 0,25 mg Theophyllin subcutan injiziert). Die harntreibende Wirkung der nächst niedrigeren Deriphyllinkonzentration, die einem Theophyllingehalt von 30 mg% entsprach, erwies sich ebenfalls noch als recht erheblich, während die Verabfolgung einer 20 mg% Theophyllin enthaltenden Deriphyllinverdünnung nur noch eine sehr geringe Zunahme der normalen Harnausscheidung verursachte. Theophyllino-Natrium aceticum wirkte deutlich schwächer harntreibend als Deriphyllin. Eine 115 mg%ige Lösung, deren Theophyllingehalt 80 mg% beträgt, hatte annähernd die gleiche Wirkung auf die Harnausscheidung wie die Verdünnung von 0,25 ccm Deriphyllin auf 100 ccm mit einem Theophyllingehalt von 50 mg%. Die Lösung von 72 mg Theophyllin-Natrium aceticum in 100 ccm, entsprechend 50 mg% Theophyllin, zeigt eine etwas geringere diuretische Wirksamkeit als eine Deriphyllinverdünnung, die einem Gehalt von 30 mg% Theophyllin entsprach. Die Theophyllinwirkung wird also nach dieser Versuchsreihe im Deriphyllin ungefähr verdoppelt.

Dies bestätigten auch weitere Versuche an anderen Mäusegruppen, die aber aus Gründen der Raumersparnis nicht aufgeführt werden sollen und bei denen der Unterschied zwischen Theophyllin-Diäthanolamin (Deriphyllin) und Theophyllino-Natrium aceticum sogar z. T. noch größer war.

In weiteren Versuchsreihen wurde an 10 frischen Mäusegruppen der Frage nachgegangen, in welchem Grade Diäthanolamin an der diuretischen

Wirkung von Deriphyllin beteiligt ist. Für die Versuche wurde salzsaures Diäthanolamin, in den 100, 50, 35 und 20 mg% Diäthanolamin entsprechenden Konzentrationen in 0,3%iger Kochsalzlösung gelöst. Bei diesen Versuchen zeigte es sich, daß das Präparat in der Tat deutlich harntreibend wirkt, und zwar in den Größenordnungen, die den Deriphyllindosen entsprechen, die für eine diuretische Wirkung an die Maus erforderlich sind. Die Tabelle 3 gibt diese Versuche wieder.

Tabelle 3.

Gruppe	Normal-ausscheidung ccm Urin	Diäthanolamin			
		100 mg% ccm Urin	50 mg% ccm Urin	35 mg% ccm Urin	20 mg% ccm Urin
1	1,1	1,8	—	—	1,0
2	1,3	2,1	—	—	1,4
3	1,5	2,2	—	—	1,7
4	1,2	2,0	—	1,5	1,2
5	1,1	2,0	1,8	1,2	—
6	1,2	—	2,1	1,4	—
7	1,4	—	1,9	1,3	—
8	1,6	—	2,1	1,5	—
9	1,3	—	1,9	1,6	—
10	1,2	—	2,0	—	—

Aus der Tabelle 3 geht hervor, daß die der 100 mg% Diäthanolamin entsprechenden Konzentration von salzsaurem Diäthanolamin eine kräftige diuretische Wirkung entfaltet. Die normale Harnmenge wird hiernach um 50—75% erhöht. Weiter zeigte es sich, daß die Wirkung der halben Konzentration (50 mg%) nicht viel geringer ist. Wenn daher Deriphyllin in der 50 mg% Theophyllin entsprechenden Konzentration eine Verdoppelung der normalen Urinmenge hervorzurufen pflegt, so ist hieran sicherlich Diäthanolamin, das ja in gleicher Menge wie Theophyllin in diesem Präparat vorhanden ist, in annähernd gleich starker Weise beteiligt. Die Befunde sprechen also dafür, daß es sich hier um eine Addition der Wirkungen dieser beiden Körper handelt.

Die Tabelle 3 zeigt weiter, daß eine Konzentration von 35 mg% nur noch eine sehr geringe diuretische Wirkung besitzt. Nach den in der Tabelle 2 wiedergegebenen Versuchen mit Deriphyllin genügt allerdings diese geringe Wirkung, um die diuretische Wirksamkeit der entsprechenden Deriphyllinkonzentration deutlich zu fördern, so daß auch hier die Urinmengen nicht unbeträchtlich größer sind, als es nach dem Theophyllingehalt der Deriphyllinkonzentration erwartet werden konnte. Die Wirkung des Diäthanolamins geht hierbei über eine einfache Wirkungsaddition hinaus.

Weitere Versuche wurden mit den Äthylendiamin enthaltenden Präparaten Euphyllin und Novophyllin vorgenommen. Es zeigte sich,

daß beide Präparate ebenfalls sehr starke Diuretica sind, die ungefähr doppelt so stark harntreibend wirken, als es ihrem Gehalt an Theophyllin entspricht.

Die Tabelle 4 gibt einige dieser Versuche mit Novophyllin an 13 Mäusegruppen wieder, deren Normalausscheidung bei den geschilderten Versuchsbedingungen 1,1—1,7 ccm Urin betrug. Die Tiere erhielten je 0,5 ccm von Novophyllinverdünnungen (mit 0,3%iger Kochsalzlösung), die Theophyllinkonzentrationen von 0,18—0,49 mg% entsprachen, subcutan injiziert. Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist die diuretische Wirkung des Novophyllins außerordentlich kräftig und übertrifft die des Theophyllino-Natrium aceticum um mehr als das Doppelte.

Ähnliche Ergebnisse wurden auch mit Euphyllin erhalten, das ja bis auf den Luminalgehalt und den etwas höheren Gehalt an Äthylendiamin dem Novophyllin gleicht. Störend war bei diesen Versuchen die starke Erregung der Mäuse. Nach höheren Dosen kam es dabei oft zu Beißereien, wobei viele Tiere so schwer verletzt wurden, daß sie längere Zeit aus dem Versuch genommen werden mußten.

Tabelle 4.

Gruppe	Normal-ausscheidung ccm Urin	Novophyllin		
		18 mg% Theophyllin ccm Urin	30 mg% Theophyllin ccm Urin	50 mg% Theophyllin ccm Urin
30	1,7	2,0	2,3	—
31	1,3	1,6	2,1	—
32	1,7	2,0	2,3	—
33	1,2	1,4	1,8	2,6
34	1,2	1,5	2,0	2,5
35	1,6	2,0	2,4	3,0
36	1,4	1,8	—	3,1
37	1,5	1,7	—	2,8
38	1,2	1,5	—	2,2
39	1,6	1,7	2,1	3,5
40	1,7	2,0	2,3	3,3
41	1,7		2,5	—
42	1,3		2,0	—

Versuche mit Äthylendiamin zeigten, daß Mengen, die denen entsprechen, die mit diuretisch wirksamen Novophyllin- und Euphyllindosen verabfolgt werden, ebenfalls harntreibend wirken (vgl. Tabelle 5).

Die Wirkung dieser verhältnismäßig kleinen Gaben (Äthylendiamin ist in den genannten Präparaten nur zu rund 20% enthalten) ist jedoch nicht sehr stark. Die starke diuretische Wirkung von Novophyllin und Euphyllin dürfte mithin auf einer Potenzierung des Theophyllineffektes durch Äthylendiamin beruhen.

Tabelle 5.

Gruppe	Normal-ausscheidung ccm Urin	Äthylendiamin		
		5 mg% ccm Urin	10 mg% ccm Urin	20 mg% ccm Urin
1	1,2	1,4	—	1,5
2	1,7	1,8	—	1,9
3	1,4	1,5	—	1,9
4	1,4	1,6	—	2,0
5	1,1	—	1,3	1,5
6	1,3	—	1,5	1,5
7	1,5	—	1,8	2,0
8	1,2	—	1,5	1,6
9	1,3	—	1,6	-
10	1,0	—	1,5	—
11	1,6	—	1,9	—
12	1,3	—	1,5	—

Zusammenfassung.

Die Toxizität verschiedener Theophyllinpräparate wurde an der weißen Maus geprüft. Es zeigte sich, daß die Giftigkeit durch den in einigen Präparaten üblichen Gehalt an Äthylendiamin und Diäthanolamin etwa um 20—25% zunimmt.

Ferner zeigte es sich, daß Theobromin etwa $2^1/_2$mal weniger und Coffein nahezu ebenso giftig ist wie Theophyllin.

Die tödliche Dosis des Theophyllins wird durch geeignete Luminalgaben etwas heraufgesetzt. Umgekehrt gelingt es, Luminal durch geeignete Theophyllindosen etwas zu entgiften.

Die zentralerregende Wirkung des Theophyllins wird durch Äthylendiamin im Gegensatz zu Diäthanolamin verstärkt.

Die diuretische Wirkung des Theophyllins wird durch Diäthanolamin (Deriphyllin) und durch Äthylendiamin (Euphyllin, Novophyllin) ungefähr verdoppelt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Gießen.
(Direktor: Professor Dr. F. Hildebrandt.)

Über die Weckwirkung verschiedener Analeptica bei der Alkohol- und Chloralosenarkose*.

Von

J. Hess.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Dezember 1940.)

Der Antagonismus zwischen Analepticum und Narkoticum ist bereits sehr häufig untersucht worden. Mit seiner Hilfe gelingt es, sowohl die Wirkungsstärke eines Analepticums zu beurteilen, als auch eine eventuelle lähmende Komponente, die bei höherer Dosierung vorliegt, zu erfassen. Die zahlreichen Untersuchungen, besonders über Cardiazol und Coramin [zusammenfassende Darstellung s. F. Hildebrandt (1)], lassen dies zur Genüge erkennen. Eine Lücke ist insofern nur hier festzustellen, als der Antagonismus dieser Analeptica gegenüber hauptsächlich an der Großhirnrinde angreifenden narkotischen Substanzen bisher noch nicht untersucht ist. Wir haben diese Lücke durch eingehende Untersuchungen der Weckwirkung von Cardiazol und Coramin zu schließen versucht und haben die Versuche weiter noch ergänzt durch die Heranziehung der beiden Analeptica Pervitin und Cyclitón, die erst im Laufe der letzten Jahre in die Therapie eingeführt wurden.

Die Versuche wurden in Serienversuchen an der Ratte als bequemem und billigem Versuchstier durchgeführt. Wir versuchten dabei, uns dadurch ein genaueres Bild über den Einfluß des Analepticums auf die Narkose zu verschaffen, daß wir das Durchlaufen der einzelnen Stadien durch genaue Beobachtung der Tiere zu erfassen suchten. So erhielten wir neben der Beeinflussung der Gesamtdauer der Narkose auch eine feinere Nuancierung der Analepticumwirkung in unseren Versuchen.

Die Festlegung der einzelnen Narkosestadien erfolgte nach Girndt (2), die im folgenden mitgeteilten Untersuchungsergebnisse sind jeweils die Mittelwerte aus je 10 Versuchen.

Antagonismus gegen Alkoholnarkose.

Als geeignet zur Erreichung einer genügend tiefen Narkose erwies sich eine Dosierung von 2 ccm 25%igen Alkohols/100 g Körpergewicht. Nach durchschnittlich 8 Minuten trat eine tiefe Narkose ohne vorhergehende Exitationsphase ein, wobei das Stadium V (nur noch Augendrehreaktion und Rückenmarksreflexe auslösbar) erreicht wurde. Die Gesamtschlaf-

* Dissertation Gießen 1941.

dauer betrug bei 13 Tieren im Mittel 197,6 Minuten, wobei die einzelnen Stadien folgendermaßen durchlaufen wurden: Stadium V dauerte 65,1 Minuten; Stadium IV: 44,8; Stadium III: 22,7; Stadium II (und I, das sich von der restlosen Erholung nicht mit Sicherheit genau abtrennen läßt): 65,4 Minuten. Die Streuung war sowohl bezüglich der Gesamtdauer der Narkose, wie auch bezüglich der Dauer der einzelnen Stadien nicht allzu groß. Tiere, die keine genügende Narkosetiefe erreichten, wurden als unbrauchbar ausgeschieden. Die anderen wurden etwa 3 Wochen später wieder benutzt und erhielten sofort nach dem Eintritt der tiefen Narkose das Analepticum.

Cardiazol.

Als Dosierung wählten wir die einfache und die halbe Krampfdosis (5 bzw. 2,5 mg/100 g Körpergewicht). Wie aus der beifolgenden Kurve

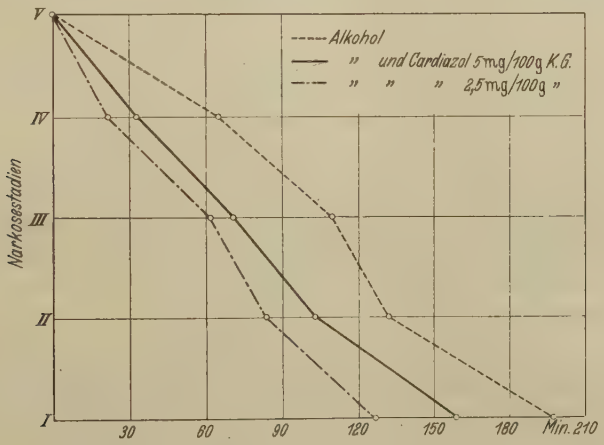


Abb. 1.

(Abb. 1) hervorgeht, wird durch die Dosierung von 5 mg die Gesamtnarkosedauer im Mittel um 38 Minuten verkürzt. Dabei betrifft die Verkürzung hauptsächlich das tiefste Narkosestadium V, denn von da ab laufen die reine Alkoholkurve und die Cardiazol-Alkoholkurve praktisch parallel.

Mit der niedrigeren Dosierung von 2,5 mg, also der halben Krampfdosis, wurde sogar noch ein besseres Resultat erzielt, die Gesamtdauer verkürzte sich um 71 Minuten gegenüber der reinen Alkoholnarkose.

Coramin.

Beim Coramin wählten wir als Dosierung in Analogie zum Cardiazol die einfache und die halbe Krampfdosis (30 bzw. 15 mg/100 g Körpergewicht). Mit der niedrigen Dosierung wurde die Narkosedauer um 67 Mi-

nuten verkürzt, also in der gleichen Weise wie bei 2,5 mg Cardiazol. Auch hier wurde die Verkürzung der Narkose hauptsächlich durch Abkürzung des tiefsten Narkosestadiums (s. Abb. 2) bewirkt. Bei der höheren

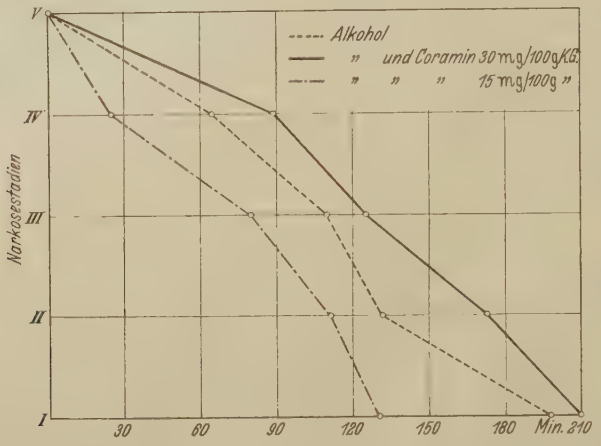


Abb. 2.

Coramindosis trat dagegen eine deutliche synergistische Wirkung mit dem Alkohol zutage, denn das Narkosestadium V war um gut 20 Minuten verlängert und auch der Mittelwert der Gesamtnarkose war etwas erhöht. Dies deckt sich mit den bekannten Erfahrungen über die lähmende Wirkung höherer Coramindosen.

Pervitin.

Über das seit kurzem in die Therapie eingeführte Pervitin liegen bisher nur wenige Weckversuche vor. Nach Hauschild (3) wird die Chloral-

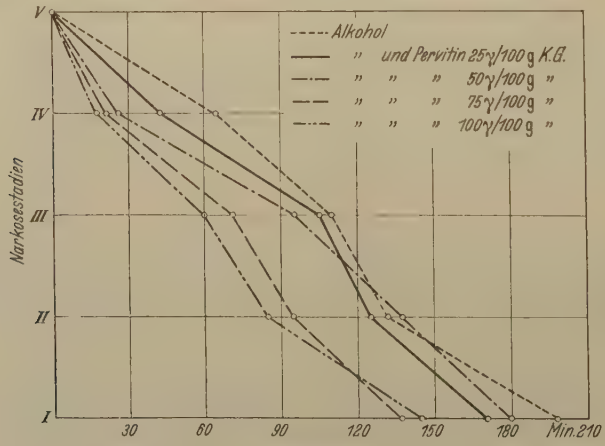


Abb. 3.

hydrat-, Veronal- und Pernoctonnarkose in der Gesamtdauer verkürzt, doch tritt keine volle Weckwirkung ein. Auch die Erholungszeit aus der Alkoholnarkose ist nach seinen Angaben um 40 % kürzer (Dosierung 0,3 mg pro 100 g Ratte).

Wir haben Pervitin in der Dosierung von 25, 50, 75 und 100 γ/100 g Körpergewicht untersucht, was etwa der Dosierung, mit der Hauschild an der Maus eine zentral erregende Wirkung nachweisen konnte, entspricht. Die Abb. 3 läßt erkennen, daß schon die niedrigen Dosierungen von 25 und 50 γ die Gesamtnarkosedauer etwas abkürzen. Noch stärkere Wirkungen erzielten wir mit der höheren Dosierung von 75 und 100 γ, in dieser Dosierung wurde fast das Optimum der Cardiazol- und Coraminwirkung erreicht. Auch hier wurde vor allem das Narkosestadium V abgekürzt. Ein Optimum wie bei Cardiazol oder Coramin konnte nicht festgestellt werden, das Pervitin hat demnach zum mindesten bei der von uns angewandten höheren Dosierung noch keinen lähmenden Effekt.

Cycliton.

Auch über Cycliton, das ebenfalls vor einigen Jahren als Analepticum in die Therapie eingeführt wurde (4, 5), liegen bisher nur wenige Versuche

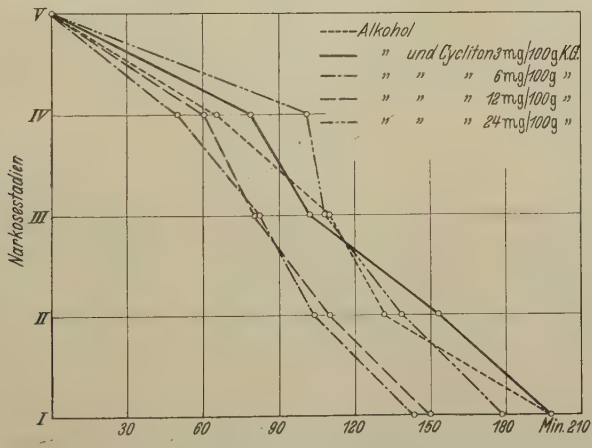


Abb. 4.

vor. Nur Atzert (6) hat in unserem Institut einige Weckversuche angestellt, die einen Antagonismus des Cyclitons gegenüber der Paraldehyd-, Medinal- und Urethannarkose ergaben. Die Chloralhydrat-, Avertin- und Pernoctonnarkose wurde dagegen gar nicht oder nur in geringem Grade beeinflußt.

Wir haben das Cycliton in der Dosierung von 3, 6, 12 und 24 mg pro 100 g Körpergewicht untersucht. Wie aus der Abb. 4 hervorgeht, ist die Weckwirkung im ganzen gering. Die niedrige Dosierung

von 3 mg beeinflußt die Alkoholnarkose praktisch nicht. Die Gaben von 6 und 12 mg wirken verkürzend, aber nicht so stark als Cardiazol, Coramin und Pervitin. Die Dosierung von 24 mg verlängert das erste Stadium der Narkose um gut 35 Minuten, dagegen wird das vierte Stadium etwas abgekürzt. Da auch das Stadium III und II günstig beeinflußt werden, ergibt sich trotz des negativen Erfolgs im Stadium V doch noch eine leichte Verkürzung der Gesamtnarkosedauer.

Antagonismus gegen Chloralosenarkose.

Große Schwierigkeiten hatten wir bei der Untersuchung des Antagonismus der Analeptica gegenüber Chloralose durch die Steigerung der Rückenmarksreflexe, die unter Chloralosewirkung eintritt. Nach einigen Vorversuchen kamen wir schließlich auf eine Dosierung von 8 mg Chloralose pro 100 g Körpergewicht intraperitoneal gegeben. Bei niedrigerer Dosierung war die narkotische Wirkung zu gering, bei höherer Dosierung waren die Krämpfe so stark, daß man eine Weckwirkung überhaupt nicht hätte beurteilen können. Mit 8 mg jedoch gelang es uns, die Tiere, die 8—10 Minuten nach der Injektion ein etwa $^1/_4$ Stunde dauerndes Krampfstadium durchlaufen hatten, einigermaßen in ein Narkosestadium zu bringen, in dem eine Weckwirkung zu beobachten war. Das Mittel der Gesamtnarkosedauer betrug in dieser Dosierung 182,5 Minuten, von denen über die Hälfte (107 Minuten) auf das Narkosestadium V und IV entfielen. Das Analepticum wurde subcutan gespritzt, sobald die Tiere Seitenlage eingenommen hatten.

Cardiazol.

In der Dosierung zwischen 1 und 10 mg fanden wir keine deutliche Beeinflussung der Chloralosenarkose. Die Gesamtnarkosedauer wurde eher um einige Minuten verlängert, doch betraf diese Verlängerung fast nur das letzte Stadium vor dem vollkommenen Erwachen. Eine genaue Verfolgung der einzelnen Stadien war praktisch unmöglich wegen der durch die Chloralose hervorgerufenen Steigerung der Reflexerregbarkeit.

Coramin.

Mit diesem Analepticum fielen die Versuche am ungünstigsten aus. Bei der in den Alkoholversuchen angewandten Dosierung von 15 und 30 mg Coramin/100 g Körpergewicht ging der größte Teil der Tiere unter Krämpfen zugrunde, ohne daß eine Weckwirkung hätte festgestellt werden können. Auch bei einer viel geringeren Dosierung von nur 3 mg Coramin starben von 12 Tieren 9. Die Gesamtnarkosedauer war deutlich verlängert, besonders bei der Dosierung von 15 und 30 mg Coramin.

Pervitin.

Auch die Weckversuche mit Pervitin waren wenig befriedigend. Nur bei 25 γ war die Gesamtnarkosedauer nicht verlängert. Das tiefste Narkose-

stadium war im Mittel um etwa 10 Minuten verkürzt. Bei der höheren Dosierung von 75 und 100 γ wurde die Gesamtnarkosedauer um fast 1 Stunde verlängert, bei 1 mg sogar um fast 2 Stunden. Die Verlängerung der Narkose erstreckte sich dabei vor allem auf das tiefste Stadium. Immerhin war die Pervitinwirkung im Vergleich zu Coramin noch insofern günstig, als wenigstens keine Todesfälle eintraten, auch nicht bei der höchsten Dosierung von 1 mg.

Cycliton.

Das Cycliton glich ungefähr dem Coramin in seiner Wirkung auf die Chloralosenarkose. Die Dosierung von 25 mg, als höchste Gabe bei den Alkoholversuchen wurde nicht geprüft, weil schon bei der Hälfte dieser Dosis 80% der Tiere zugrunde gingen. Bei den geringeren Dosen von 3 und 6 mg traten auch schon Todesfälle ein. Eine Weckwirkung war bei keiner Dosierung festzustellen, im Gegenteil, die Gesamtnarkosedauer wurde regelmäßig verlängert.

Zusammenfassung.

Überblickt man die gesamten hier mitgeteilten Versuchsergebnisse, so kann man folgendes feststellen:

Die Alkoholnarkose läßt sich durch Cardiazol, Coramin, Pervitin und Cycliton antagonistisch beeinflussen. Bei Cardiazol ergibt sich ein Optimum mit guter Weckwirkung in der Dosierung von 2,5 mg/100 g. Die höhere Dosierung von 5 mg hat geringere Weckwirkung. Auch bei Coramin ist ein Optimum bei 15 mg vorhanden, während die höhere Dosierung von 30 mg synergistisch mit dem Alkohol wirkt, im Sinne einer Verlängerung der Narkose. In gleicher Weise verkürzte auch Pervitin die Alkoholnarkose, eine lähmende Wirkung bei höherer Dosierung war nicht erkennbar. Cycliton wirkte in der niedrigeren Dosierung antagonistisch, während höhere Dosen wie bei Coramin die narkotische Wirkung des Alkohols verstärkten.

Auf die Chloralosenarkose wirkte keines der Analeptica antagonistisch ein, doch war die Beurteilung durch die starke Reflexerregbarkeit, die die Chloralose hervorrief, praktisch unmöglich. Cardiazol und Pervitin verlängerten beide etwas die Narkose. Coramin und Cycliton wirkten ausgesprochen toxisch, sie töteten schon in niedrigen Gaben eine große Zahl der Tiere in der Chloralosenarkose.

Literatur.

1) Hildebrandt, F.: Handb. exper. Pharmak., Erg.-Werk, **5**, 128 u. 151 (1937). — 2) Girndt, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **164**, 118 (1932). — 3) Hauschild, F.: Klin. Wschr. **1938**, S. 1257; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 476 (1939). — 4) Hoffer u. Reinert: Arch. internat. Pharmacodynam. **66**, Heft II (1937). — 5) Frommel: Revue Medical de la Suisse Romande **1937**, S. 520. — 6) Atzert, E.: Dissertation Gießen 1940.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn.
(Direktor: Prof. Dr. Schulemann.)

Zum Ursprung der Endothelstadien des Plasmodium gallinaceum*.

Von

H. Zain.

(Eingegangen am 12. September 1940.)

Bei einer ganzen Anzahl von Vogelplasmodien[1] sind in den letzten Jahren neben den bekannten erythrocytären Formen exo-erythrocytäre Parasitenformen aufgefunden worden. Diese exo-erythrocytären Formen, die kurz als EE-Formen oder als Endothelstadien, abgekürzt als E-Stadien bezeichnet werden, bilden kein Pigment und kommen in endothelialen Zellelementen des Wirtes vorwiegend in Zellen des Reticuloendothels und in Monocyten zur Entwicklung. Außer bei Vogelplasmodien scheinen nach den Untersuchungen von Schwetz[2] bei der Affenmalaria ähnliche Parasitenformen vorzukommen. Von besonderer Bedeutung dürften die Befunde Raffaeles[3] sein, dem es erstmalig bei der menschlichen Malaria (Plasmodium vivax) gelang, E-Stadien im Sternalpunktat nachzuweisen.

Über den Ursprung und die pathologische Bedeutung dieser E-Stadien sind wir bis heute nicht völlig im klaren. Sicher scheint seit kurzem nach den Untersuchungen von Kikuth und Mudrow[4] zu sein, daß aus den Sporocoiten EE-Formen entstehen und von diesen erst die erythrocytäre Malaria ausgeht. Ob neben dem aus Sporocoiten hervorgegangenen E-Stadiencyclus auch aus erythrocytären Parasitenformen sich EE-Formen bilden können, ist heute noch unklar. Der experimentelle Beweis ist hier noch zu erbringen. Zur Klärung dieser Frage sollen die folgenden Versuche einen Beitrag liefern.

Die Arbeit wurde zu einer Zeit begonnen, als man über die Herkunft der EE-Formen nur Vermutungen äußern konnte. Raffaele vertrat die Ansicht, daß alle E-Stadien sich von Sporocoiten ableiten, während nach Missiroli, Coradetti, Ungo Mugdan u. a. nur erythrocytäre Parasitenformen als Ausgangsformen für E-Stadien in Frage kommen sollten.

In Zusammenarbeit mit Dr. Kasten[5] versuchten wir damals EE-Formen in Gewebskulturen zur Entwicklung zu bringen. Benutzt wurde das

* Die Arbeit wurde mit Mitteln der Deutsch. Forschungsgemeinschaft ausgeführt.

[1] Plasmodium elongatum, Huff u. Bloom: J. infect. Diss. (Am.) **57**, 315 (1935). Plasmodium relictum, Raffaele: Riv. Malariol. **1**, 15, 309 (1936); **16**, 79 (1937). Plasmodium gallinaceum, James u. Tate: Trans. Soc. trop. Med. **31**, 4 (1937). Plasmodium cathemerium, Kikuth u. Mudrow: Zbl. Bakt. **142**, 113 (1938). Plasmodium circumflexum, Manwell u. Goldstein: Am. I. trop. Med. **19**, 279 (1939). — [2] Schwetz: Zbl. Trans. royal Soc. trop. Med. **31**, 470 (1938). — [3] Raffaele: Riv. Malariol. **19**, 195 (1940). — [4] Kikuth u. Mudrow: Zbl. Bakt. usw. I. Orig. **142**, 113 (1938); Mudrow: Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. **44**, 257 (1940). Schulemann u. Spies, D. med. Wschr. **66**, 15 (1940). — [5] Die auf Vorschlag von Prof. Schulemann gemachten Gewebskulturversuche wurden durch das Entgegenkommen Prof. Ceelens im patholog. Institut Bonn ausgeführt.

Plasmodium gallinaceum, das von Brumpt zuerst beschrieben ist. Es ist eins der Vogelplasmodien, das neben den erythrocytären Formen reichlich E-Stadien zu bilden vermag. Als Kulturgewebe wurden von etwa 11 Tage alten Hühnerembryonen, Milzstückchen, die gut phagocytierende Zellen auswachsen lassen, ausgepflanzt. Aus Sporocoiten in der Kultur E-Stadien zu züchten, scheiterte, da es nicht gelang, Sporocoiten ohne bakterielle Verunreinigung zu erhalten. Diese Schwierigkeit wurde nicht weiter zu überwinden versucht, da es experimentell einfacher schien, zuerst mal zu versuchen, aus Blutparasiten, die leicht bakterienfrei gewonnen werden konnten, E-Stadien in der Kultur zur Entwicklung zu bringen. Wollte man so beweisen, daß E-Stadien aus Blutparasiten entstehen können, so mußte man weiter ausschließen können, daß unter den der Kultur zugesetzten erythrocytären Formen sich E-Stadien befanden. Hierauf wird später zurückzukommen sein.

In zahlreichen Versuchen wurden abzentrifugierte Hühnererythrocyten mit den verschiedenen Entwicklungsstadien der Parasiten den Milzkulturen zugesetzt und eine Phagocytose parasitenhaltiger Erythrocyten einwandfrei beobachtet. In keinem Fall konnten jedoch in den in verschiedenster Weise modifizierten Versuchen E-Stadien gefunden werden[6].

Bei der Suche nach den Gründen für das negative Ergebnis der Versuche zeigte sich, daß eine ganze Anzahl noch unbekannter Faktoren erst experimentell zu erforschen war, wenn man mit mehr Aussicht auf Erfolg die Versuche wieder aufnehmen wollte. Sicherlich ist aus dem Mißlingen der Versuche noch nicht der Schluß zu ziehen, daß es unmöglich ist, aus Blutparasiten in geeigneten Gewebskulturen E-Stadien zu erhalten. Es war denkbar, daß der Stoffwechsel der embryonalen Zellen nicht das geeignete Milieu für die Entwicklung der EE-Formen darstellt. Möglich war, daß nur bestimmte Formen der Entwicklungsstadien der Parasiten in der Lage sind, nach der Phagocytose zu EE-Formen auszuwachsen, daß diese Formen in dem Kulturmedium nicht lange überleben oder mit den abzentrifugierten Blutelementen nur zufällig oder in ganz geringer Anzahl in die Kultur gelangten. Schließlich war für das Kulturverfahren von Bedeutung, wie lange E-Stadien zu ihrer Entwicklung brauchen, wenn eventuell geeignete Ausgangsformen phagocytiert waren. Aus an den am Huhn gewonnenen Ergebnissen schien das zeitliche Auftreten der EE-Formen nach Blutinfektion erheblichen Schwankungen unterworfen zu sein. James[7] und später Mudrow[8] konnten in einer Anzahl Fälle etwa 1 Woche nach

[6] Die von R. Hegner und F. Wolfson [Amer. J. Hyg. **29**, 83 (1939)] fast zur selben Zeit unternommenen Gewebskulturversuche mit Plasmodium cathemerium hatten den Zweck zu versuchen, E-Stadien von erythrocytären Parasitenformen zu trennen. Sie pflanzten von malariakranken Vögeln, die EE-Formen aufwiesen, gewaschene Gehirn-, Lungen- und Milzstückchen aus und fanden, daß diese Gewebe noch nach 8 Tagen im Tierversuch infektiös waren. Im Lungengewebe konnten 15 Tage nach der Auspflanzung Makrophagen mit E-Stadien aufgefunden werden. — [7] James: Trop. Med. and Hyg. **32**, 763 (1939). — [8] Mudrow: Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. **44**, 257 (1940).

der intramuskulären Impfung E-Stadien finden, Jacobi[9] dagegen nie vor Beginn der 4. Woche. Diese unterschiedlichen Ergebnisse bedurften der Klärung und im folgenden soll als erstes auf diese Frage näher eingegangen werden.

Verlauf der Infektion und Auftreten der EE-Formen nach intravenöser Übertragung parasitenreichen Blutes.

Die Plasmodium gallinaceum-Infektion junger Leghornhähnchen, die intramuskulär mit parasitenreichem Blut geimpft wurden, verlief nach den Ergebnissen Jacobis so, daß die ersten Parasiten zwischen dem 6. und 9. Tage nach der Impfung im Blutausstrich aufzutreten pflegten. Der Höhepunkt der Blutinfektion lag zwischen dem 10. und 17. Tage. Vom 22. Tage ab waren meist Parasiten im Blutausstrich nicht mehr auffindbar. EE-Formen waren regelmäßig zwischen dem 25. und 30. Tage, also nach Ablauf der akuten Blutinfektion im Gehirnabstrich vorhanden. Anschließend an das Auftreten der EE-Formen wurde häufig ein Wiederaufflackern der erythrocytären Infektion beobachtet. In Übereinstimmung mit anderen Autoren soll das Auftreten der EE-Formen vom Stande der erythrocytären Infektion unabhängig sein. Demgegenüber stehen die Befunde von James[10], der bei intramuskulär mit parasitenhaltigem Blut infizierten Hühnern bereits während der akuten Blutinfektion (ab 4. Tag nachdem Parasiten im Blutausstrich aufzufinden waren) E-Stadien nachweisen konnte, aber auch nach Abklingen der akuten Blutmalaria noch zahlreiche Tiere an der EE-Infektion zugrunde gehen sah. Mudrow kam später im wesentlichen zu denselben Ergebnissen wie James und konnte in einem Falle bereits einen Tag bevor Parasiten im Blutausstrich aufzufinden waren, E-Stadien nachweisen. — Sie benutzte Hühner und Kücken verschiedener Rasse, die meist intramuskulär, aber auch intravenös und intraperitoneal mit Blut ($^1/_2$ ccm), das reichlich Parasiten aufwies, infiziert waren.

Um auszuschließen, daß durch Alter, Rasse der Hähne, sowie durch Jahreszeit das Auftreten der EE-Infektion zeitlich beeinflußt wird, wurden eine Anzahl Hähne verschiedener Rasse und verschiedenen Alters (2 Monate bis über 1 Jahr alt im Gewichte von 500—2400 g) im Sommer, Herbst und Winter 1938/39 mit demselben Plasmodium gallinaceum-Stamm[11], den Jacobi benutzte, wieder in derselben Weise intramuskulär mit Blut geimpft, das während der akuten Blutinfektion dem Spendertier entnommen war. Der Plasmodienstamm war seit März 1938 ausschließlich durch Blutüberimpfung fortgeführt worden, hatte also keine Mückenpassage mehr durchgemacht.

Der Nachweis der EE-Formen erfolgte auch hier wieder im Gehirn, denn bildet Plasmodium gallinaceum diese Formen, so sind sie am sichersten

[9] Jacobi: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 482 (1939). — [10] James: Trop. Med. and Hyg. **32**, 763 (1939). — [11] Der Plasmodium gallinaceum-Stamm war aus Paris von Herrn Prof. Brumpt bezogen.

und regelmäßigsten in diesem Organ zu finden. Eine laufende Untersuchung auf EE-Formen an ein und demselben Tier ist nicht möglich, im Blute ist nur zufällig zur Zeit der EE-Infektion mal eine EE-Form zu finden. Erschwert ist die Untersuchung noch dadurch, daß bei den meisten Tieren die EE-Infektion völlig symptomlos verläuft. Nur in Ausnahmefällen wurden bei sehr starkem Befall des Gehirns Lähmungserscheinungen beobachtet. Man ist mithin darauf angewiesen, während des Ablaufs der Malaria aus dem Gehirnbefund einer ganzen Anzahl zu verschiedenen Zeiten verstorbener oder getöteter Tiere den Verlauf der EE-Infektion festzulegen.

Aus Tabelle 1 sind die Ergebnisse zu entnehmen. Zwischen dem 22. und 33. Tage nach der Impfung liegen die positiven E-Stadien-Befunde. Sie stimmen gut überein mit den in Klammern gesetzten Werten, die Jacobi bei jungen Leghornhähnchen fand. Bei insgesamt 133 intramuskulär geimpften Hähnen konnten vor dem 21. Tage EE-Formen in keinem Falle gefunden werden.

Erwähnt sei, daß bei alten Tieren, die EE-Infektion schwächer zu sein scheint als bei jungen. Die erythrocytäre Malaria verlief im Spätsommer und Herbst, wohl bedingt durch den in dieser Jahreszeit im allgemeinen schlechteren Gesundheitszustand der Hähne (Mauser) meist sehr intensiv und entsprechend häufig tödlich. Wurden schwer an der Blutinfektion erkrankte Hähne mit einer einmaligen Dosis Chinin oder Atebrin (50 bis 100 mg peroral) behandelt, so traten die EE-Formen auch dann zur gewohnten Zeit in Erscheinung.

Um zu analysieren, ob die nach Blutinfektion als „Inkubationszeit" erscheinende Periode für die Entwicklung der EE-Formen von Bedeutung ist, wurde versucht, diese Anlaufszeit der Blutmalaria in Wegfall zu bringen. Zu diesem Zweck wurden Hähne intravenös mit relativ großen Mengen parasitenreichen Blutes infiziert.

Zur intravenösen Übertragung der Malaria gelangte Blut, das auf dem Höhepunkt der Blutinfektion (+++) bezeichnet[12], aus der Flügelvene entnommen und zur Vermeidung der Gerinnung gleich mit isotoner Natriumcitratlösung im Verhältnis 4 Blut : 1 Citrat verdünnt wurde. Dieses, kurz als Citratblut bezeichnete Blut wurde möglichst bald nach der Entnahme den neu zu infizierenden Hähnen in die Flügelvene injiziert. Die Hähne erhielten soviel Citratblut (5—10 ccm), daß nach der Injektion der Parasitengehalt ihres Blutes mindestens mit (++) zu bezeichnen war. Die Blutinfektion der so infizierten Tiere lief gleich in den ersten Tagen nach

[12] Zur Kennzeichnung der Intensität der Blutinfektion ist das von Jacobi gewählte Schema hier beibehalten:

\+ = 1—10 Parasiten in 100 Gesichtsfeldern.
++ = 11—100 Parasiten in 100 Gesichtsfeldern.
+++ = 1—2 Parasiten in 1 Gesichtsfeld (Mittelwert aus 10—30 Gesichtsfeldern).
\+ = 1—2 Parasiten in 1 Gesichtsfeld.
++ = 10—20 Parasiten in 1 Gesichtsfeld.
+++ = mehr als 20 Parasiten in 1 Gesichtsfeld (Vergrößerung 450—500fach).

Tabelle 1. Auftreten der EE-Formen, gerechnet vom Impftage ab.

Tag n. d. Impfung	Anzahl d. Tiere	intramuskul. Impfung: EE-Formen negativ	intramuskul. Impfung: EE-Formen positiv	intravenöse Impfung: Anzahl Tiere	intravenöse Impfung: EE-Formen negativ	intravenöse Impfung: EE-Formen positiv	Plasma-Impfung: Anzahl Tiere	Plasma-Impfung: EE-Form. negativ	Plasma-Impfung: EE-Form. positiv
1.	1	△							
2.									
3.									
4.				4	○○○○				
5.	2	△○(2)*		8	○○○○○○○○				
6.				4	△○○○				
7.		(3)		1	○				
8.	4	△○○○		1	○				
9.	1	△(3)							
10.	1	△(1)		2	○○		2	○○	
11.	3	△○○(1)		1	△		1	○	
12.	1	○(7)		1	△				
13.	2	△△(3)		1		●	1	○	
14.	1	○(3)		1		▲	1	○	
15.	1	△		1		●			
16.	2	○○(5)		2		▲▲	5	△△○○	●
17.		(1)		1		▲	2	△△	
18.	1	△		2		▲▲	2	△△	
19.		(3)		3		▲▲▲	5	△△△	●●
20.	1	△(1)		4	△	▲▲●	1	△	
21.	1	△(1)	(1)	3	△	▲●	3	△	▲▲
22.	2	△△(1)	▲(1)	1	△				
23.		(1)	(1)						
24.	3	△(2)	▲●(3)						
25.	1		●(5)				4	△	▲▲▲
26.	4	△	▲▲●(3)	1	△				
27.	3	(1)	▲●●(3)				2		▲▲
28.	4		▲●●●(3)						
29.	4	△△	▲●(4)	42			29		
30.	2	△△	(4)						
31.	3	△△(1)	●(1)						
32.	1		●						
33.	2	△△(1)	(1)						
34.	2	(1)	●●(1)						
35.	1	△(2)							
36.									
37.		(1)	(1)						
	55 (78)								

△ = Tier getötet, EE-Formen negativ.
○ = Tier gestorben, EE-Formen negativ.
▲ = Tier getötet, EE-Formen positiv.
● = Tier gestorben, EE-Formen positiv.

[1]) Die intramuskulare und intravenöse Impfung erfolgte mit parasitenreichem Blut.

[2]) Das aus parasitenreichem Blut gewonnene Plasma wurde intravenös injiziert (s. Text).

* Die entsprechenden Werte für die i. m. Impfung der Arbeit Jacobis sind in Klammern gesetzt hier wiedergegeben.

der Übertragung weiter. In wenigen Tagen, spätestens am 4.—5. Tage, in den meisten Fällen früher, war bei allen Tieren der Blutausstrich (+++) die Blutinfektion auf dem Höhepunkt angelangt. Ein hoher Prozentsatz der Tiere überlebte diese akute schwere Blutmalaria nicht. Um den Zeitpunkt der EE-Infektion bei derart infizierten Hähnen festlegen zu können, wurde, wenn im Blute massenhaft Parasiten vorhanden waren und mit dem Tode der Tiere zu rechnen war, Chinin oder Atebrin (1mal 0,05 bis 0,1 g peroral) verabfolgt[13].

[13] Es konnte auch hier nicht beobachtet werden, daß eine derartige Behandlung sich auf den Zeitpunkt der EE-Infektion auswirkt.

Aus Tabelle 1 ist ersichtlich, daß nach intravenöser Übertragung bereits am 13. Tage nach der Impfung EE-Formen im Gehirnabstrich nachweisbar sind. In der 3. Woche scheinen sie regelmäßig vorhanden zu sein. Bedenkt man, daß nach intramuskulärer Impfung etwa 1 Woche vergehen muß, ehe die Blutinfektion die Stärke erreicht, die die intravenös infizierten Hähne von Beginn an aufweisen, so entspricht dem, daß nach intravenöser Impfung die EE-Infektion etwa 1 Woche früher auftritt (s. Tabelle 1). Zählt man bei den intramuskulär geimpften Hähnen die EE-Infektion erst von dem Tage ab, an dem der Parasitenbefall ihres Blutes den Grad erreicht hat, den die intravenös geimpften Hähne gleich ab 1. Tag p. i. aufweisen, so kommt man bei den intramuskulär und intravenös geimpften Tieren fast zu derselben Zeitspanne. Dies kommt in Tabelle 2 bei einem Vergleich von Spalte 1 und 2 zum Ausdruck. In Spalte 1 sind von den intramuskulär Geimpften die Hähne aufgeführt, aus deren Krankengeschichte der genaue Verlauf der Blutmalaria zu ersehen war. Weiter ergibt sich, daß alle E-Stadienbefunde nach intravenöser Übertragung der Malaria in einem gut abzugrenzenden Zeitraum auftreten und das von 14 getöteten und 4 gestorbenen Tieren in dieser Zeit 16 positive und nur 2 negative Befunde zu verzeichnen sind, wobei diese letzteren in das Ende dieses Zeitraumes fallen (s. Tabelle 1). Die Zeit, in der nach intramuskulärer Impfung E-Stadien nachweisbar sind, ist länger (s. Tabelle 1) und in dieser Zeit wurden von 19 getöteten und 13 gestorbenen 20 positive und 12 negative E-Stadienbefunde gezählt.

Vergleicht man hiermit den Verlauf der Blutinfektion, so ergibt sich folgendes. Die intravenöse Übertragung zahlreicher Parasiten führt in kürzester Zeit bei allen Tieren zu einer schweren akuten Blutinfektion, die meist, um die Tiere am Leben zu erhalten, durch Chinin oder Atebrin gebessert oder abgekürzt wurde. Hier ist die Blutinfektion zeitlich nach unten und meist auch nach oben gut abzugrenzen. Dem entspricht das regelmäßige Erscheinen der EE-Formen in einer bestimmten Zeitspanne. Nach intramuskulärer Impfung bedingen schon die Anlaufszeit der Blutmalaria und die Abwehrkräfte, die das Tier bei langsamerem Infektionsverlauf zu entwickeln vermag, daß die Blutinfektion bei einem Tiere früher, beim anderen erst später zur Entwicklung kommt. Dem entspricht das in der Tabelle zum Ausdruck kommende unregelmäßigere Auftreten der EE-Formen in einer über längere Zeit sich erstreckenden Periode. Wenn man jedoch den Beginn der akuten Blutmalaria als Ausgangspunkt nimmt, wird auch nach intramuskulärer Impfung das Bild einheitlicher und die EE-Formen treten in einer sich schon deutlicher abzeichnenden Zeitspanne in Erscheinung (s. Tabelle 2).

Zusammenfassend gewinnt man nach diesen Betrachtungen den Eindruck, daß zwischen der Blutinfektion und der EE-Infektion Zusammenhänge bestehen müssen. Ein so frühes Auftreten der Endothelstadien, wie es James und später Mudrow beschreiben, konnte auch bei den intravenös geimpften Tieren hier nicht festgestellt werden.

Tabelle 2. Auftreten der EE-Formen gerechnet vom Erscheinen der Blutparasiten ab.

Tag nach Erscheinen d. Blutparasiten (s. Text)	intram. Impfung		intravenöse Impfung		Plasma-Impfung	
	EE-form negativ	EE-form. positiv	EE-formen negativ	EE-form positiv	EE-formen negativ	EE-form. positiv
1.						
2.						
3.						
4.	□		□□□□		□□	
5.	□□□□		□□□□□□□□		□□□	
6.	□□		□□□□		□□	
7.	□		□			■ H_{199}
8.			□		□	
9.					□□	
10.	□		□□		□□□□□	■ H_{197}
11.			□		□□□	
12.	□□		□		□	■ H_{131}
13.	□			■	□	
14.		■■		■	□	
15.		■		■	□	
16.	□	■■■		■■		■■■
17.		■■		■		■■
18.		■■		■■		
19.		■■■		■■■		■
20.			□	■■■		■
21.		■	□	■■		
22.			□			
23.						
24.	□	■				
25.						
26.			□			

* H_{199}, H_{197}, H_{131} siehe Protokoll.

□ = EE-Formen, negativ.
■ = EE-Formen, positiv.

Die Beobachtung, daß die Infektion im Blute gleich weiterläuft, wenn sehr viele Parasiten auf einmal ins Blut gebracht werden, zeigt, daß die Latenzzeit nur eine scheinbare ist. Das Blut eines intramuskulär mit Plasmodium relictum geimpften Kanarienvogels ist nach Raffaele schon am ersten Tag infektiös. Jacobi fand, daß schon wenige Minuten nach der Impfung eines Huhnes mit 0,5 ccm parasitenreichen Blutes in den Brustmuskel das Blut für ein anderes Huhn infektiös war. Die scheinbare Inkubationszeit ist hergeleitet aus dem Parasitenbefund im Blutausstrich. Ist die Zahl der Parasiten im Blute sehr gering, so dauert es einige Zeit, eben die 6—9 Tage der „Latenzzeit", bis ihre Zahl so groß geworden ist, daß sie auch mit einiger Wahrscheinlichkeit im Blutausstrich aufzufinden sind.

Protokoll.

[1] Hahn 199. Übertragen wurden 7,5 ccm Citratplasma. Blutausstrich war, vom Impftage an gerechnet, am 8. Tage (+), am 9. Tage (++), vom 12.—15. Tage (+++), am 16. Tage starb das Tier. Im Gehirnausstrich EE-Formen vorhanden.

[2] Hahn 197. Übertragen wurden 7,5 ccm Citratplasma. Blutausstrich war vom Impftage ab gerechnet, am 8. Tage (+), am 9. Tage (++), am 10. Tage (++), vom 12. Tage ab (+++), am 14. Tage (++), ab 17. Tage bis zum Tode des Tieres am 19. Tage (+++). Im Gehirnausstrich EE-Formen vorhanden.

[3] Hahn 131. Übertragen wurden 3 ccm Citratplasma. Am 7. Tage, vom Impftage an gerechnet, war der Blutausstrich (++), am 11. Tage (+++). Die Blutinfektion nahm dann wieder ab, war am 14. Tage (++), am 17. Tage (++). Tier starb am 19. Tage. Im Gehirn EE-Formen vorhanden.

Übertragung der Malaria durch Plasma parasitenreichen Blutes.

Ausgangspunkt für die weiteren Versuche bildete die Beobachtung, daß Plasma, das durch Zentrifugieren parasitenreichen Citratblutes gewonnen war, infektiös war. Hähnen, die intramuskulär in einigen Fällen, auch intravenös geimpft waren, wurde auf dem Höhepunkt der erythrocytären Infektion — also bevor hier EE-Formen im Gehirn gefunden wurden — Blut, das bereits in der Spritze mit isotoner Natriumcitratlösung

vermischt war, aus der Flügelvene entnommen und anschließend zentrifugiert. Das klare Citratplasma wurde vorsichtig abgehoben und zur Prüfung, ob es infektiös war, Hähnen intravenös injiziert. Das jeweils benutzte Citratblut war verschieden stark zentrifugiert, mindestens 15 Minuten lang bei 2000 Touren, höchstens 1 Stunde lang bei etwas über 3000 Touren. War das Blut sehr parasitenreich, so genügte bereits 1 ccm des Citratplasmas zum Angehen der Infektion. Größere Plasmamengen (5 ccm und mehr) waren stets infektiös, auch wenn das zugehörige Blut parasitenärmer (++ oder nur +) war. Die erythrocytäre Malaria entwickelte sich ähnlich wie nach intramuskulärer Impfung. Zwischen dem 6. und 8. Tage, in einem Falle bereits am 4. Tage, waren die ersten Parasiten im Blutausstrich zu finden.

Wurde das abgehobene Plasma ein zweites Mal zentrifugiert ($^1/_4$ Stunde bei 3000 Touren), wurde mit Zentrifugengläsern gearbeitet, die innen paraffiniert waren, vermieden, daß das an den Grenzflächen befindliche Plasma verwendet wurde, so blieb auch derart behandeltes Plasma infektiös.

Um die im Plasma vorhandenen Malariaerreger fassen zu können, wurde als erstes versucht, ihre Größe zu ermitteln. Zu diesem Zwecke wurde das Plasma durch Filter bestimmter Porengröße filtriert. Orientierende Filtrationsversuche mit den gebräuchlichen Seitz-Serumfiltern ergaben, daß durch diese Filter geschicktes Plasma im Tierversuch steril war, die Infektionserreger also vom Filter zurückbehalten wurden.

Für die weiteren Versuche wurden geeichte Jenaer Glasfilter[14] benutzt, die als Druckfilter[15] hergerichtet waren. Das dichteste Filter, das zur Verwendung kam, hatte einen mittleren Porendurchmesser von 0,78 μ, der größte Porendurchmesser war mit 1,01 μ angegeben, gültig bei einer Durchflußgeschwindigkeit von 50 ccm H_2O in 25 Minuten. Bei dem Druck, der dieser Durchflußgeschwindigkeit für Wasser entsprach, erfolgte die Filtration des Plasmas. Von dem so filtrierten Plasma wurden 9,5 ccm, in einem anderen Falle 14 ccm je einem Hahn intravenös gegeben. Eine Infektion trat bei beiden Tieren nicht ein. Um den Filterrückstand zu gewinnen, wurde etwas 0,9%ige NaCl-Lösung unter Druck umgekehrt durch das Filter geschickt. Der so gewonnene Rückstand einem Hahn injiziert, erwies sich als infektiös.

Parasitenformen, deren Dimensionen wesentlich unter 1 μ lagen, schienen nach diesen Filtrationsversuchen nicht im Plasma zu sein. Von den bekannten Parasitenformen sind die Merocoiten die kleinsten, ihre Dimensionen liegen schätzungsweise um 1 μ. Daß Merocoiten in dem abzentrifugierten Plasma geblieben sein konnten, war aus folgendem denkbar. Mit Abnahme der Teilchengröße wächst die Oberfläche relativ zur Masse des Teilchens. Bei der Größe der Merocoiten konnte durch ihre relativ große Oberfläche zumal in dem kolloidalen Plasma ihre Sedimentations-

[14] Die Filter wurden von Herrn Dr. Knöll, Schott, Jena, freundlichst zur Verfügung gestellt. — [15] Der erforderliche Filtrationsdruck wurde mittels Druckreglers einer Sauerstoffbombe entnommen.

geschwindigkeit bereits derart abnehmen, daß sie bei der hier maximal möglichen Zentrifugengeschwindigkeit (bei 3000 Touren pro Minute 1 Stunde lang zentrifugiert) nicht aus dem Plasma entfernt wurden. Es mußte dann möglich sein, sie im Filterrückstand zu finden. Kleinste Filterrückstände, die sich auf und in der oberen rauhen Filterschicht der Jenaer Glasfilter abgesetzt hatten, zu fassen, erwies sich als schwierig. Im Ausstrich konnten freie Merocoiten nicht sicher nachgewiesen werden. Der Giemsa-Farbstoff läßt leicht Partikelchen auf dem Objektträger zurück, die Merocoiten ähnlich sein können[16].

Von Bedeutung dürfte jedoch sein, daß in einem von drei untersuchten Plasmarückständen große, dicht vor der Sporulation stehende pigmenthaltige Schizonten zum Teil von ihren Blutkörperchen losgelöst gefunden wurden. Sie sind wohl, mitbedingt durch ihre maulbeerähnliche große Oberfläche, schwerer aus dem Blute abzuzentrifugieren als rote und weiße Blutkörperchen.

Die Filtrationsversuche wurden fortgesetzt mit einem Jenaer Glasfilter, dessen mittlerer Porendurchmesser mit 2,27 μ, dessen größter Porendurchmesser mit 4,45 μ bei einer Durchflußgeschwindigkeit von 50 ccm H_2O in 40 Sekunden angegeben war. Merocoiten mußten durch ein derartiges Filter durchgehen. Vier verschiedene Versuche ergaben übereinstimmend, daß auch ein derart weites Filter die Malariaüberträger zurückhielt. So filtrierte Plasmamengen von 6,5, 10, 7, 8 ccm je einem Hahn intravenös injiziert, führten zu keiner Infektion, während in den Kontrollversuchen wenige ccm des nicht filtrierten Plasmas infektiös waren. Damit war es unwahrscheinlich, daß Merocoiten im Plasma sein konnten. Es war jedoch auszuschließen, daß Merocoiten in den Poren des mehrere Millimeter dicken Filters durch Adsorption festgehalten wurden. Eine Behandlung des Filters mit einer kapillaraktiven verdünnten Na-Oleatlösung $p_H \sim 8{,}5$ führte zu keinem anderen Ergebnis, auch nicht Versuche mit Filtern von wesentlich geringerer Filterdicke und anderer Oberflächenbeschaffenheit. Benutzt wurden Membranfilter der Firma Sartorius, Göttingen, Porenweite 2 μ. In einem Falle wurden 12 ccm, in einem anderen Falle 18 ccm Plasma unter Druck durch diese Membranfilter geschickt und das Filtrat Hähnen intravenös injiziert. Beide Tiere blieben gesund, während 3 ccm des nicht filtrierten Plasmas infektiös waren. Damit kann als bewiesen gelten, daß das im Plasma vorhandene infektiöse Element größer als ein freier Merocoit ist. In dem Membranfilterrückstand fanden sich in einem Falle dieselben reifen Schizontenformen wieder.

EE-Formen ließen sich in keinem Falle in den Filterrückständen nachweisen. Daß aus EE-Formen entstandene Merocoiten im Plasma waren, ist nach den Filtrationsversuchen ebenfalls auszuschließen. Sie hätten wie die aus Schizonten entstandenen Merocoiten sicher durch das Filter von

[16] Bei der mikroskopischen Untersuchung des Filterrückstandes zeigte sich, daß man sehr sorgfältig arbeiten muß, wenn man völlig erythrocytenfreies Plasma erhalten will.

2,27 μ mittlerer Porenweite hindurchgehen müssen. Es sei hier bemerkt, daß die Blutentnahme zur Plasmagewinnung zu erfolgen pflegte, sobald das intramuskulär oder intravenös infizierte Tier zahlreiche Parasiten im Blute aufwies. In den zahlreichen, während der ersten akuten Blutinfektion angefertigten Blutausstrichen konnten niemals E-Stadien gefunden werden. Erst wenn EE-Formen in Gehirn, Leber, Milz usw. aufzutreten pflegten, waren sie dann und wann auch im Blute aufzufinden, also nach den Ergebnissen dieser Arbeit zu einem wesentlich späteren Zeitpunkt.

Verlauf der EE-Infektion nach intravenöser Plasmaimpfung.

Der Verlauf der Blutmalaria nach intravenöser Plasmaimpfung war kein anderer als nach intramuskulärer Impfung. Die Verfolgung der EE-Infektion führte jedoch in einigen Fällen zu einem überraschenden Ergebnis. Aus Tabelle 1 geht hervor, daß EE-Formen bereits am 16. und 19. Tage nach der Plasmaimpfung gefunden wurden, während sie nach intramuskulärer Impfung frühestens am 21. Tage auftreten. Noch deutlicher wird dies, wenn man, wie in Tabelle 2 wiedergegeben, die EE-Infektion von Beginn eines deutlich positiven Blutbefalls an rechnet. Nach intramuskulärer Impfung sind Endothelstadien ab 14. Tage, nachdem der Blutausstrich (++) geworden ist, vorhanden. Nach Übertragung infektiösen Plasmas sind bei einem Hahn H_{199} bereits am 7. Tage, bei Hahn H_{197} am 10. Tage und bei Hahn H_{131} am 12. Tage Endothelstadien vorhanden. Aus den beigefügten Protokollen ist ersichtlich, daß die ersten Parasiten im Blute bei H_{199} und H_{197} am 8. Tage, bei H_{131} am 7. Tage vom Impftage an gerechnet, im Blutausstrich zu finden waren, also zur normalen Zeit. Da weder nach intramuskulärer Impfung noch nach intravenöser Übertragung parasitenhaltigen Blutes (insgesamt 175 Hähne) ein so frühes Auftreten der EE-Infektion zu beobachten war, wie hier nach intravenöser Plasmaimpfung, ist es unwahrscheinlich, daß es sich um Zufallsbefunde handelt.

Die Versuchsergebnisse sprechen dafür, daß die EE-Formen aus reifen Schizonten, wie sie im Plasma gefunden wurden, hervorgehen. Diese kurz vor der Sporulation stehenden Schizonten haben ihren Entwicklungszyklus im Erythrocyten abgeschlossen, um in Merocoiten zu zerfallen. In diesem Stadium besitzt m. E. der Parasit die Fähigkeit, sowohl den Zyklus im Erythrocyten zu erneuern, als auch in einer Endothelzelle zur EE-Form heranzuwachsen. Eine einmal im Erythrocyten begonnene Entwicklung des Parasiten kann nur in diesem Milieu zu Ende geführt werden. Wird er mit seinem Erythrocyten vom Reticuloendothel phagocytiert, so wird er zugrunde gehen, er kann sich auf das neue Zellmilieu nicht umstellen, und seine bisherige Entwicklung zur EE-Form umbiegen. Sind im Plasma viele reife Schizonten, und das hängt davon ab, daß sie im Ausgangsblute zahlreich vertreten sind, so ist die Möglichkeit, Endothelstadien vorzeitiger aufzufinden, gegeben. Dies ist in 3 von 10 positiven Befunden der Fall (s. Tabelle 2). Man wird EE-Formen dann aber nicht früher finden dürfen als nach intravenöser Übertragung relativ großer Mengen

parasitenreichen Blutes, denn auch hier können, abhängig von der Zusammensetzung der einzelnen Parasitenstadien, gleich zahlreiche reife Schizonten vorhanden sein, die als Ausgangsform für Endothelstadien dienen können. Vor dem 16. Tage von der Plasmaimpfung an gerechnet, wurden denn auch EE-Formen nicht gefunden.

Verfolgt man die Weiterentwicklung der einzelnen Parasitenformen nach intravenöser Übertragung von Malariablut, so scheint nach den Beobachtungen von Jacobi[17] die Sporulation der Schizonten vorübergehend zu sistieren, während sich junge Parasitenstadien des Plasmodium gallinaceum ungehindert weiterentwickeln. Zu demselben Ergebnis kam Hewitt[18], der die Weiterentwicklung von Plasmodium cathemerium in vitro studierte. Je länger aber diese reifen Schizontenformen im Blute des neuen Wirtes kreisen, desto eher wird mit ihrer Phagocytose zu rechnen sein. Werden aus den Schizonten Merocoiten frei, so stehen zahlreiche rote Blutkörperchen sicherlich zu Beginn der Blutinfektion den Merocoiten zu neuem Befall zur Verfügung, daß die Wahrscheinlichkeit, daß sie phagocytiert werden, recht gering sein dürfte. Sie wird erst größer im weiteren Verlauf der Blutinfektion, wenn die Zahl der noch nicht befallenen Erythrocyten ständig geringer wird und mit zunehmender Intensität der Blutinfektion die Zahl der freiwerdenden Merocoiten wächst. In dieser Phase der Blutinfektion wird wohl das Maximum der Phagozytose von Merocoiten als Ausgangsstadien für EE-Formen zu suchen sein.

Wie eingangs beschrieben, gelang es nicht, aus abzentrifugierten Blutkörperchen, die einer Kultur embryonalen Milzgewebes zugesetzt wurden, E-Stadien zu züchten. Hegner und Wolfson (s. oben) pflanzten Lungengewebe von Vögeln, die an einer EE-Infektion litten, aus und konnten 15 Tage später in Makrophagen E-Stadien finden. Mit Makrophagen einerseits und mit aus dem Plasma isolierten reifen Schizonten andererseits gelingt es vielleicht, im Kulturversuch E-Stadien zur Entwicklung zu bringen. Die Erfolgsaussichten werden jedoch dadurch geschmälert, daß die im Plasma vorhandenen Parasitenformen gegen Sauerstoffmangel empfindlich zu sein scheinen.

Infektiöses Plasma, das 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt wird, erweist sich nach dieser Zeit im Tierversuch als steril[19]. Jacobi[20], der diese Beobachtung weiter verfolgte, konnte zeigen, daß die Lebensdauer der im Plasma vorhandenen Parasiten durch Zusatz von Blut eines normalen Huhnes verlängert wird. Ein Parasitenbefall der zugesetzten Erythrocyten findet nicht statt, ausschlaggebend dürfte die durch das Oxyhämoglobin bedingte bessere O_2-Versorgung des Plasmas sein.

Man wird daher auch den im Kulturmedium befindlichen ausgereiften Schizonten genügend Sauerstoff liefern müssen, um ein Absterben vor ihrer Phagocytose zu vermeiden.

[17] Jacobi: Naunyn-Schmiedebergs Arch., erscheint demnächst. — [18] Hewitt: Amer. J. Hyg. **27**, 341 (1938) (zitiert nach Referat). — [19] Parasitenreiches Blut ist noch nach Tagen, bei etwa 20° C aufbewahrt, infektiös. [20] Jacobi: s. oben, dort auch weitere Literatur.

Ursachen für das zeitlich verschiedene Auftreten der EE-Formen nach Blutinfektion.

James verfolgte das Auftreten von E-Stadien im Verlaufe der Plasmodium gallinaceum-Infektion bei Hühnern, die teils durch Sporocoiten, teils durch parasitenhaltiges Blut infiziert waren. Nach Sporocoiteninfektion konnten fast regelmäßig EE-Formen während der ersten akuten Blutmalaria, meist in den ersten 10 Tagen, nach Erscheinen der Blutparasiten, nachgewiesen werden. Diese EE-Infektion sei im folgenden als EE-Frühinfektion bezeichnet. Wurde parasitenhaltiges Blut intramuskulär geimpft, so trat nach James in etwa einem Drittel der Fälle wieder eine EE-Frühinfektion auf. Prozentual mehr Tiere erkrankten jedoch erst zu einer späteren Zeit an EE-Formen, nachdem die akute Blutinfektion bereits überstanden war. Bei diesen letzteren Tieren trat die EE-Infektion also zu einer Zeit auf, in der sie nach den Ergebnissen dieser Arbeit ausschließlich aufzutreten pflegte. Da nach den Untersuchungen von Kikuth und Mudrow die Sporocoiten sich in E-Stadien umwandeln müssen, bevor sie die Erythrocyten befallen können, ist heute wohl als sicher anzunehmen, daß der Ursprung der EE-Frühinfektion nach Mückenstich auf diese aus Sporocoiten entstandenen endothelialen Stadien zurückzuführen ist. Kommt es nach Überimpfung von Malariablut zur EE-Frühinfektion, so ist diese nach Raffaele, James u. a. ursächlich auf im Impfblut enthaltene E-Stadien zurückzuführen, die sich parallel mit den erythrocytären Parasiten weiterentwickeln. Ist ihre Ausgangszahl groß, so kann die EE-Infektion bereits vor Sichtbarwerden der Blutinfektion nachweisbar sein.

James äußert in seiner Arbeit schon Bedenken, ob auch die nach Blutüberimpfung erst spät zur Entwicklung kommende EE-Infektion auf E-Stadien, die mit dem Impfblut übertragen wurden, zurückzuführen ist. Er ist der Ansicht, daß einmal überimpfte EE-Formen in einem nicht immunen Vogel ihre Weiterentwicklung ununterbrochen fortsetzen müssen, mithin also nicht einzusehen ist, warum einmal die EE-Infektion gleichzeitig mit der akuten Blutinfektion, ein andermal erst nach ihrem Abklingen zur Entwicklung gelangt. Aus einer derartigen Überlegung heraus glaubt er, daß man schließlich annehmen müsse, daß EE-Formen sowohl aus Sporocoiten als auch im späteren Verlauf der Infektion aus erythrocytären Parasitenformen entstehen können.

Mudrow kommt im wesentlichen zu denselben Versuchsergebnissen wie James. Sie lehnt jedoch die Voraussetzung, die James zu seiner Schlußfolgerung führt, daß einmal in einem Tier vorhandene E-Stadien sich ungehemmt weiterentwickeln müssen, ab. Nach Ansicht von Mudrow „müssen irgendwelche Faktoren da sein, die fördernd oder hemmend in den Vermehrungsprozeß eingreifen, über die wir aber noch sehr wenig wissen". Sie dürfte demnach dazu neigen, auch die spätere EE-Infektion auf überimpfte E-Stadien zurückzuführen.

In vorliegender Arbeit konnte in keinem Falle eine EE-Frühinfektion nach Überimpfen von Malariablut beobachtet werden. Der Grund hierfür wird nach den Ergebnissen dieser Arbeit verständlich. Ausschlaggebend ist, wann im Laufe der Malariaerkrankung Blut zur Weiterimpfung entnommen wurde, und ob im Verlaufe der Versuche der Plasmodienstamm nur durch Blutüberimpfung wie hier, oder ob er teils durch Mückenpassage, teils durch Blutüberimpfung fortgeführt wurde.

Wird von einem Sporocoiten-infizierten Huhn Blut während der ersten akuten Blutinfektion entnommen, so ist die Wahrscheinlichkeit, daß mit dem Blute E-Stadien übertragen werden, relativ groß. Sind E-Stadien mit überimpft, so wird es, nicht anders als bei Sporocoiten-infizierten Tieren, wieder zur EE-Frühinfektion kommen. Die Möglichkeit ist dann auch wieder gegeben, daß in dem Blute, das diesem Tier während der akuten Blutinfektion entnommen wird, wieder E-Stadien enthalten sind. Ist jedoch das überimpfte Blut frei von E-Stadien, so kann sich die EE-Infektion erst später ausbilden, da sie jetzt ihren Ursprung aus erythrocytären Parasiten nimmt. Dann ist aber auch das Blut während der ersten akuten Blutinfektion noch frei von EE-Formen. Wird Blut zur Neuinfektion anderer Tiere stets zu dieser Zeit, bevor es zur Entwicklung von E-Stadien aus Blutparasiten gekommen ist, entnommen, dann wird es zu keiner EE-Frühinfektion mehr kommen können. So erklärt sich, daß in unseren Versuchen nie eine EE-Frühinfektion zur Beobachtung kam.

Zusammenfassung.

Außer den sich in Erythrocyten entwickelnden Malariaparasiten existieren Parasitenformen in endothelialen Zellelementen des Wirtes, die als Endothelstadien (E-Stadien) oder auch als exo-erythrocytäre Formen (EE-Formen) bezeichnet werden. Die durch Mückenstich in den Organismus gelangten Sporocoiten müssen sich, wie heute als bewiesen anzusehen ist, erst in E-Stadien umwandeln, ehe es zu einem Befall der Erythrocyten kommt. Ob auch aus erythrocytären Parasitenformen E-Stadien entstehen können, wird vermutet, ist aber bisher nicht bewiesen. Für die Malariaforschung haben die EE-Formen besonderes Interesse. Ein Mittel, daß diese Form vernichtet, dürfte nicht nur prophylaktisch wirksam sein, sondern in den E-Stadien auch eine Quelle der Recidive beseitigen.

In vorliegender Arbeit werden experimentelle Unterlagen für die Abstammung von E-Stadien (Plasmodium gallinaceum) aus erythrocytären Parasitenformen erbracht.

Versuche in Gewebskulturen embryonaler Hühnermilz durch Zusatz von Malariablut (Plasmodium gallinaceum) E-Stadien zur Entwicklung zu bringen, mißlangen bisher. Das negative Ergebnis wurde der Anlaß zu einer Reihe weiterer Versuche. Zur Verwendung kam ein Plasmodium gallinaceum-Stamm, der ausschließlich durch Blutüberimpfung von Huhn zu Huhn fortgeführt wurde. Die Blutentnahme zur Weiterimpfung erfolgte,

wenn während des ersten akuten Malariaanfalls reichlich Parasiten im Blute zu finden waren.

Wurden Hähne intramuskulär mit Malariablut geimpft, so wurden in Übereinstimmung mit Jacobi nie vor dem 21. Tage p. i. EE-Formen im Gehirn gefunden. Die exo-erythrocytäre Infektion (EE-Infektion) tritt erst in Erscheinung, wenn die akute Blutinfektion abgeklungen ist. Jahreszeit, Rasse sowie Alter der Tiere (2 Monate bis über 1 Jahr alt) sind ohne Einfluß auf den Zeitpunkt der EE-Infektion.

Durch intravenöse Übertragung relativ großer Parasitenmengen verschwindet die „Latenzzeit", die Blutmalaria ist in wenigen Tagen auf dem Höhepunkt angelangt. Die EE-Infektion tritt frühestens ab 13. Tage nach der intravenösen Impfung in einer gut abzugrenzenden Zeitspanne auf. Rechnet man nach intramuskulärer Impfung die EE-Infektion in gleicher Weise wie nach intravenöser Impfung von der eigentlichen Blutinfektion, d. h. vom Sichtbarwerden der Parasiten im Blutausstrich ab, so ist die Zeitspanne zwischen EE-Infektion und Beginn der akuten Blutinfektion in beiden Fällen dieselbe. Die als Inkubationszeit erscheinende Periode dürfte demnach für diese EE-Infektion ohne Bedeutung sein. Auf die weiteren Zusammenhänge zwischen Blutinfektion und EE-Infektion ist an Hand von Tabellen näher eingegangen.

Plasma, das durch Zentrifugieren parasitenreichen Citratblutes gewonnen wird, erweist sich als infektiös. Durch Filtrationsversuche und getrennte Untersuchung von Rückstand und Filtrat wird bewiesen, daß Merocoiten als Malariaüberträger im Plasma nicht in Frage kommen können. E-Stadien konnten im Plasmarückstand nicht nachgewiesen werden. Dagegen wurden wiederholt reife, kurz vor der Sporulation stehende Schizonten im Rückstand aufgefunden.

Der Verlauf der Blutinfektion nach Plasmaimpfung entspricht dem nach intramuskulärer Impfung mit Malariablut. Auffällig war jedoch, daß in 3 von 10 Fällen nach Plasmaimpfung ein verfrühtes Auftreten der EE-Infektion beobachtet wurde. Hieraus wird geschlossen, daß E-Stadien aus phagocytierten reifen Schizonten hervorgehen können. Nur Parasitenformen, die ihre Entwicklung im Erythrocyten abgeschlossen haben, können sich m. E., wenn sie phagocytiert werden, in EE-Formen umwandeln, nicht dagegen noch unreife im Erythrocyten heranwachsende Stadien.

Von anderer Seite wurde ein erheblich früheres Auftreten der EE-Infektion (Plasmodium gallinaceum) meist gleichzeitig mit der akuten Blutinfektion beobachtet. Diese EE-Frühinfektion tritt nach Übertragung der Malaria durch Sporocoiten fast regelmäßig, nach Impfung mit Malariablut in etwa ein Drittel der Fälle auf. Die Ursache für die EE-Frühinfektion nach Blutimpfung ist in nitüberimpften E-Stadien zu suchen. Wenn keine E-Stadien im Impfblute enthalten sind, geht die EE-Infektion aus Blutparasiten hervor und pflegt nach der akuten Blutinfektion in Erscheinung zu treten.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck.

Um die wirksamen Prinzipien der Mistel.

Diskussionsbemerkung.

Von

A. Jarisch.

(Eingegangen am 21. November 1940.)

Zwischen den Untersuchungen des Freiburger pharmakologischen Institutes[1] und den unseren[2] besteht folgender Gegensatz: Während die Freiburger als blutdrucksenkend nur die bekannten cholinartigen Stoffe der Mistel[3] gelten lassen, behaupten die Innsbrucker, daß auch dem herzwirksamen, schließlich zu Rhythmusstörungen und zum Herztode führenden Prinzip eine blutdrucksenkende Wirkung zukäme, nämlich eine reflektorische, die im Vagus geleitet wird und mit einer gleichfalls reflektorisch bedingten Herzhemmung einhergeht.

Enders[4] bestreitet die reflektorische Wirkung, 1. weil er den Venendruck registrierte, ihn ansteigen und nach der Vagotomie nicht mehr abfallen sah, 2. weil er nach Atropin im wesentlichen die gleichen Ergebnisse erhielt und 3. weil er nach der Vagotomie nicht mehr den Ausgangszustand eintreten sah. Er betrachtet daher die Blutdrucksenkung als Folge einer Leistungsverminderung des Herzens.

Demgegenüber ist festzustellen, daß wir während der als reflektorisch angesprochenen Wirkungsphase den Venendruck 1. nach der Kälteblockierung des Vagus und 2. nach Atropin fallen sahen[5] (was gerade als Beweis für die Reflexnatur der Erscheinungen angeführt wurde) und 3. daß wir nach der Vagusausschaltung wieder die ursprünglichen Verhältnisse eintreten sahen, und zwar für Stunden[5, 6].

Der Gegensatz in den Befunden hat folgende Ursache: Enders infundiert kontinuierlich bis zum Tode des Tieres; wir injizieren in kleinen Einzelgaben, bis die Blutdrucksenkung eintritt, und hören dann auf. Damit suchen wir uns vorsichtig in die reflektorische Wirkungsphase hineinzutasten und die toxischen Herzschädigungen zu vermeiden, weil sie die Reflexerscheinungen verschleiern, das Versuchstier töten und die dabei eintretende Blutdrucksenkung uns nicht interessiert.

Bei der Nachprüfung unserer Versuche empfiehlt es sich, auch die Narkose zu beachten; Äther und Chloralhydrat vernichten den Reflex vollständig[5, 6], und Äther ist, selbst nur ein bißchen, unbedingt zu vermeiden; Chloralose gibt die besten Ergebnisse und auch Pernocton ist geeignet; über Urethan fehlen uns genügende Erfahrungen. — Ferner ist es nicht zweckmäßig, den Vagus zu durchschneiden, weil der mechanische Reiz Gefäßreflexe und Rhythmusstörungen auslösen kann und es nicht möglich ist, die Ausschaltung rückgängig zu machen; die von uns benutzte Kälteblockierung des Vagus ist reizlos, reversibel und beliebig oft wiederholbar, weshalb sie gestattet, fragliche Ausschaltungsfolgen durch den Erfolg der Wiedereinschaltung zu überprüfen.

---

[1] Janssen, S.: Verh. dtsch. pharmak. Ges. **1938**, S. 215; Janssen, S., A. Enders, O. Feuchtinger: Klin. Wschr. **1940**, S. 798. — [2] Jarisch, A.: Klin. Wschr. **1939**, S. 145. — [3] Crawford, A. C., u. W. K. Watanabe: J. biol. Chem. (Am.) **19**, 303 (1914); Einleger, J., J. Fischer u. J. Zellner: Mschr. Chem. **44**, 277 (1923); Müller, J. A.: Arch. Pharmaz. **1932**, S. 451; Keil, W. nach Eichholtz: Lehrbuch der Pharmakologie **1939**, S. 151. [4] Enders, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 328 (1940). — [5] Jarisch, A., u. C. Henze: Ebenda **187**, 506 (1937); **191**, 30 (1938). — [6] Jarisch, A.: Wien. klin. Wschr. **1938**, Nr. 37.

Als wir auf die Möglichkeit einer reflektorischen Drucksenkung aufmerksam wurden, machten uns die toxischen Herzstörungen Schwierigkeiten. „Die Herzwirkung hat der Pharmakologie der Mistel manchen Streich gespielt"[2]. Deshalb untersuchten Henze und Ludwig[7] zunächst einmal den Einfluß der Mistel auf die Herztätigkeit eingehend mit dem Elektrokardiographen, wobei als zusätzliches Prüfungsverfahren die reversible Vagusblockierung, die faradische Reizung des zentrifugalen Vagusstumpfes, die Atropinisierung u. a. herangezogen wurden. Dabei lernten wir die initiale Bradycardie als vagal-reflektorisch erkennen und durch entsprechende Dosierung zeitlich von der Phase der toxischen Herzstörungen (a-v-Rhythmen usw.) trennen. Zwei Jahre danach teilte Enders in seiner Doktorarbeit[8] einige Beobachtungen über die Veränderungen des Elektrokardiogramms bei der Mistelvergiftung mit, ohne die Ergebnisse von Henze und Ludwig zu berücksichtigen. „Inzwischen" sind also doch wohl die Befunde von Enders veröffentlicht worden; auch daß die herzschädigende Wirkung der Mistel nach Vagotomie, Atropin und am isolierten Herzen eintritt, wurde bereits von uns festgestellt[9], desgleichen die Unwirksamkeit per os[2,6,10] — doch sollen dies keine Prioritätsansprüche sein.

[7] Henze, C., u. W. Ludwig: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 694 (1937). — [8] Enders, A.: Ber. Naturforsch. Ges. Freiburg i. Br. **36**, 244 (1939). — [9] Ebster, H., u. A. Jarisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **145**, 297 (1929). — [10] Jarisch, A., u. H. Richter: Ebenda **195**, 98 (1940).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

Antwort
auf die Diskussionsbemerkung von Herrn Jarisch.

(Eingegangen am 20. Dezember 1940.)

1. Herr Enders konnte die Beobachtungen von Henze und Ludwig in seiner Doktorarbeit nicht zitieren, weil seine Dissertation damals (1. 7. 1937) schon der Fakultät zur Beurteilung vorlag.

2. Weder Herr Enders noch ich bestreiten die Befunde von Herrn Jarisch, wohl aber seine Deutung: daß die blutdrucksenkende Wirkung des „Herzstoffes" vornehmlich reflektorisch bedingt sei. Unter den unsere Auffassung stützenden Gründen hat Herr Jarisch den vierten und wohl den wichtigsten nicht gewürdigt: Dieselben Blutdruckwirkungen wie am normalen Tier fanden wir mit unserem gereinigten Herzstoff auch an der dekapitierten Katze (siehe S. 334 unten und S. 339 unten). *Janssen.*

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn.
(Direktor: Prof. Dr. Schulemann.)

Zum Problem der exo-erythrocytären Entwicklungsformen von Plasmodium gallinaceum. I.*

Von

W. Schulemann und E. Knoche.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. November 1940.)

In der Deutschen medizinischen Wochenschrift 1940, S. 253, hat Schulemann eine kurze Zusammenfassung über Ergebnisse von Versuchen veröffentlicht, die im Pharmakologischen Institut der Universität Bonn angestellt wurden, um neue biologische Grundlagen zur Weiterentwicklung der Arzneitherapie von Malariainfektionen zu gewinnen. Die neuere Literatur hier nochmals im einzelnen zu zitieren und zu referieren, erscheint nicht nötig. Ausführliche Zusammenfassungen sind mehrfach veröffentlicht worden. Sie finden sich neben übersichtlich angeordneten Referaten im Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene, in der Rivista di Malariologia und im Tropical Diseases Bulletin, so daß wir darauf verweisen können.

Wir berichten im folgenden über die Ergebnisse von Versuchen, die angestellt wurden, um neue Produkte mit Wirkung gegen die exo-erythrocytären Entwicklungsformen der Malariaparasiten auswerten zu können. Dabei gingen wir von dem Gedanken aus, daß der Funktionszustand des RES voraussichtlich von Einfluß auf den Ablauf der Malariainfektion ist.

Um aus eigener Anschauung den normalen Verlauf der Infektion des Huhnes mit Plasmodium gallinaceum kennenzulernen, führte Jacobi Untersuchungen aus, über deren Ergebnis er selbst in zwei Veröffentlichungen berichtet hat[1].

Über Aufbau und Verhalten des RES bei den Vögeln war bisher nur wenig bekannt. Nur bei Kiyono[2] fanden wir einige Angaben über die Vitalfärbung mit Lithiumcarmin bei Hühnern mit Impfsarkomen. Gemeinsam mit Essmeyer[3] untersuchten wir zunächst Aufbau und Verhalten des RES bei Leghornhähnen gleicher Aufzucht und gleichen Alters bei Tieren von etwa 500—1500 g. Zur Speicherung des RES wurde Trypanblau verwendet, das in 1%iger Lösung maximal in Mengen von 0,7 ccm/100 g Huhn intravenös vertragen wurde. Den Versuchen stellte sich zunächst die Schwierigkeit entgegen, daß kalt bereitete Trypanblaulösungen ge-

* Die Arbeit wurde mit Unterstützung durch die deutsche Forschungsgemeinschaft (zum Teil mit Mitteln aus dem Roche-Fonds) durchgeführt.

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 482 (1939) und **196**, 623 (1940). — [2] Kiyono: Die vitale Karminspeicherung. Jena 1914. — [3] Inaug.-Diss. Bonn 1939.

nannter Konzentration, auch wenn sie vor der Injektion durch ein angefeuchtetes Filter filtriert worden waren, vielfach zu tödlichen Embolien führten. Diese Schwierigkeit wurde dadurch überwunden, daß die Trypanblaulösungen vor der Injektion etwa 3 Stunden am Rückflußkühler gekocht, durch ein angefeuchtetes Filter filtriert und sofort zur Injektion verwendet wurden. 24 Stunden nach der bzw. nach der letzten Injektion wurden die Tiere getötet, die Organe in 10%iger Formalinlösung fixiert und wie üblich histologisch weiter verarbeitet.

Zur Untersuchung kamen Hähne nach einmaliger Injektion, um einen Überblick über Ausbreitung und Verhalten des RES am Normaltier ohne Reizung der RES-Zellen durch die Speicherung zu bekommen. Es zeigte sich, daß das normale RES des gesunden jungen Huhnes sich in seinem Aufbau nicht wesentlich von dem des Säugetieres unterscheidet.

Wurde jeweils im Abstand von einigen Tagen die Injektion der Farbstofflösung wiederholt, so war eine Ausdehnung des gesamten RES, eine starke Speicherung in den einzelnen Zellen und Bildung freier Histiocyten zu erkennen. Aber auch in dieser Hinsicht unterscheidet sich das RES des Huhnes nicht von dem der Säugetiere.

Aus der vergleichenden Untersuchung besonders junger und besonders alter Tiere ließ sich ein Unterschied im Verhalten des RES beim Huhn nicht eindeutig feststellen.

Gemeinsam mit Kremer haben wir dann versucht, durch „Blockade" mit den verschiedensten Vitalfarbstoffen oder durch temporäre Ausschaltung des RES durch kolloide Kupferlösung* eine Änderung des Ablaufes der Infektion des Huhnes mit Plasmodium gallinaceum zu erreichen. Eindeutige Ergebnisse waren mit keiner dieser Methoden zu erzielen.

Bei früheren Untersuchungen über Vitalfärbung mit sauren Farbstoffen hatte Schulemann[4] beobachtet, daß insbesondere die Infektion nach Paal dargestellten kolloid gelösten Palladiums zu starken Reizungen des RES beim Säugetier führt. Diese Methodik verwendeten wir nun am malaria-infizierten Huhn. Über den normalen Ablauf der Infektion des Huhnes mit Plasmodium gallinaceum hat Jacobi in der Arbeit: Beiträge zur Pathologie der Infektion des Huhnes mit Plasmodium gallinaceum (Brumpt), Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, H. 3/4, 482—491, berichtet. Dort finden sich auch die Angaben darüber, in welcher Weise die Überimpfung und spätere Kontrolle der Infektion und Krankheitssymptome vorgenommen wurde.

Zur Infektion spritzten wir 1 ccm eines Gemisches aus gleichen Teilen einer 3,8%igen Natrium-Citrat-Lösung und Blut von einem stark malaria-infizierten Hahn in den Brustmuskel ein. Im Durchschnitt erscheinen am 5.—8. (9.) Tag nach der Infektion die ersten Parasiten im strömenden Blut.

---

* Wir danken der Firma von Heyden, Radebeul, dafür, daß sie uns geeignete kolloide Kupferlösungen zur Verfügung stellte.

[4] Biochem. Z. **80**, besonders S. 40—45 (1917).

Zwischen dem 10. und 13. Tage post infectionem wird im allgemeinen das Maximum der erythrocytären Infektion erreicht, wobei sich zugleich, wie das auch Jacobi schildert, eine starke Anämie ausbildet. Nach dem Abklingen der Blutinfektion, etwa am 20.—23. Tage, tritt vorübergehend ein kurzes parasitäres Rezidiv auf. Nach intramuskulärer Impfung erscheinen die exo-erythrocytären Entwicklungsformen regelmäßig zwischen dem 25. und 30. Tage. Nach dieser Zeit gelingt es nur selten, exo-erythrocytäre Formen in den Organen zu finden. In den seltensten Fällen stirbt zu oder nach dieser Zeit ein mit Plasmodium gallinaceum infiziertes Huhn, das die vorangehende akute erythrocytäre Infektion überstanden hat.

Bei unseren Versuchen zur Reizung des RES verwendeten wir ein von der I. G. Farbenindustrie A.-G. gekauftes kolloides Palladium. Dieses wurde zu 1% (Palladium + Schutzkolloid) kalt in Wasser gelöst, die Lösung dann während 2 Stunden am Rückflußkühler gekocht, durch ein angefeuchtetes Filter filtriert und nach Erkalten auf etwa 40° C intravenös injiziert. Ebenso wie bei Trypanblau gelang es auf diese Weise, die Verträglichkeit der Lösungen zu verbessern und das Entstehen von Embolien zu verhüten. Die intravenöse Injektion geschah an den Flügelvenen der Hähne, wenn nötig wurden auch die Brustvenen verwendet.

1. Versuch.

0,76 kg schweres, junges amerikanisches Leghornhähnchen auf dem Höhepunkt der Infektion mit Plasmodium gallinaceum. In jedem mikroskopischen Gesichtsfeld des Blutausstrichs finden sich durchschnittlich 10 infizierte Erythrocyten. Starke Anämie. Schleimhäute äußerst blaß. Der strohgelb verfärbte Kamm hängt schlaff zur Seite. Der Kropf ist leer. Das Tier verhält sich ruhig, seine Federn sind gesträubt.

Intravenöse Injektion von 1 ccm 1%iger koll. Palladiumlösung pro 100 g Tier (= 7,6 ccm).

Beobachtung: Nach Beendigung der Injektion bleibt das Tier mit gespreizten Flügeln ruhig sitzen. Sonst keine Besonderheiten.

Nach 1 Stunde: Das Hähnchen läuft im Käfig herum, trinkt und frißt.

Nach 24 Stunden: Der Kamm ist lebhafter rot und wird besser aufrecht gehalten. Das Tier ist sehr lebhaft. Es kräht, was man sonst nie von einem malariakranken Tier in diesem Stadium hört.

Blutausstrich: In 100 mikroskopischen Gesichtsfeldern sind nur noch 5 infizierte Erythrocyten.

Nach 48 Stunden: Äußerlich unterscheidet sich das Hähnchen von einem Normaltier nur noch durch seine etwas blasse Kammfarbe.

Das Blut ist parasitenfrei.

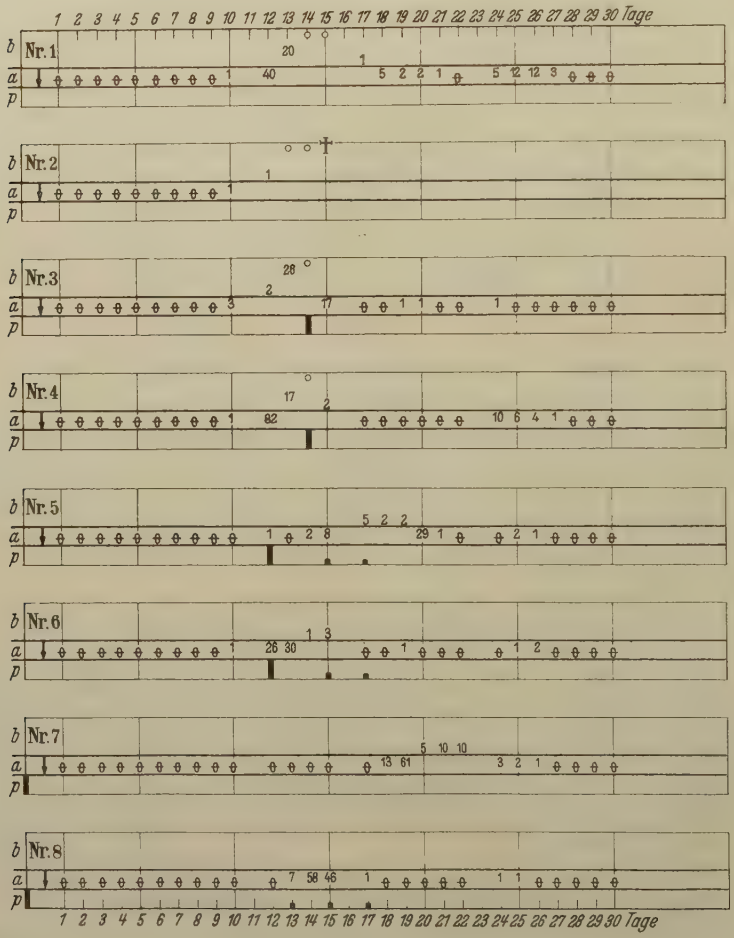
10 Tage später: Es erscheint ein kurzdauerndes Rezidiv, auf dessen Höhepunkt 15 infizierte Erythrocyten in 100 mikroskopischen Gesichtsfeldern gezählt werden. Solche Rezidive treten auch bei einer nicht behandelten Hühnermalaria auf. (Über das Rezidivproblem werden später Neele und Jacobi gesondert berichten.)

2. Versuch.

Palladiuminjektionen zu verschiedenen Zeiten der Malariainfektion.

8 amerikanische Leghornhähnchen von gleichem Alter (etwa 6 Wochen alt) und annähernd gleichem Körpergewicht (0,6—0,7 kg) werden zu diesem Versuch benutzt. Die Tiere kommen aus demselben Stall und stammen von einer Brut. Je zwei Tiere werden zu verschiedenen Zeiten der Krankheit mit gleicher Menge koll. Palladiumlösung gespritzt. Zwei Tiere dienen als Kontrolle (s. Tabelle 1*).

Tabelle 1.



* In Spalte „*p*" sind die Palladiumgaben durch Säulen gekennzeichnet, deren Länge gleichzeitig die Dosis der Palladiumgabe angeben soll. Die längsten der Säulen bedeuten, daß 1 ccm einer 1%igen wässerigen kolloidalen Palladiumlösung auf 100 g Tier intravenös verabreicht wurde. Ist die Säule nur halb so lang, so wurde nur $^1/_2$ ccm der Palladiumlösung pro 100 g Tier gegeben usw. —

Die beiden Kontrolltiere Nr. 1 und 2 zeigen den üblichen Malariaverlauf. Tier Nr. 2 stirbt auf dem Höhepunkt der Erkrankung unter einer schweren Cyanose. Der Kamm ist tiefblau gefärbt. Bei der Sektion dieses Tieres finden sich äußerst anämische Organe. Der Herzbeutel enthält viel klare, gelblich gefärbte, seröse Flüssigkeit. Oberfläche des Herzens und Innenseite des Herzbeutels sind spiegelnd und glatt. Großes Herz. Leber und Milz sind vergrößert.

Die Tiere Nr. 3 und 4 der Tabelle 1 bekommen, wie das Tier im ersten Versuch, auf dem Höhepunkt der Malaria eine Palladiuminjektion (1 ccm 1%ige koll. Palladiumlösung pro 100 g Körpergewicht).

Ergebnis: Bis zu dieser Injektion verläuft die Malaria genau wie bei den Kontrolltieren Nr. 1 und 2. Dann aber tritt eine deutliche Änderung auf. Die Zahl der Parasiten im zirkulierenden Blut nimmt plötzlich ab und das Blut ist früher als bei den Kontrolltieren parasitenfrei. Die Oligocytämie geht schneller als sonst vorüber.

Die folgenden Hähnchen Nr. 5 und 6 der Tabelle 1 werden, sobald die ersten Parasiten im Blute auftreten, mit koll. Palladiumlösung gespritzt (1 ccm auf je 100 g Tier) und einige Tage später noch zweimal mit einer kleineren Dosis ($^1/_4$ ccm pro 100 g Tier) (s. Tabelle 1).

Ergebnis: Die Zahl der Parasiten im Blute nimmt nur sehr langsam zu und ist auf dem Höhepunkt der Erkrankung sehr niedrig. Eine Oligocytämie tritt überhaupt nicht auf.

Die Tiere Nr. 7 und 8 der Tabelle 1 erhalten bereits 24 Stunden vor der intramuskulären Malariaübertragung eine Palladiumgabe (1 ccm pro 100 g Tier).

Ergebnis: Bei beiden Tieren ist die Zeit zwischen der Malariaübertragung und dem Auftreten der ersten Parasiten im zirkulierenden Blut verlängert. Die Blutinfektion bleibt gering. Bei Tier Nr. 8, das während der Blutinfektion noch dreimal (je $^1/_4$ ccm pro 100 g Tier) koll. Palladiumlösung erhält (s. Tabelle 1), kommt die Malaria überhaupt kaum zum Ausbruch. Von einer Oligocytämie ist bei beiden Tieren nicht das geringste zu merken.

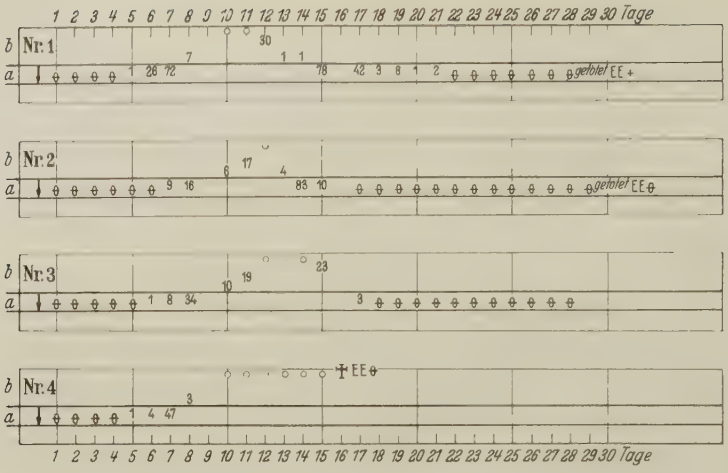
3. Versuch.

Serienversuche an amerikanischen Leghornhähnchen.

1. 4 Kontrolltiere (Tabelle 2). Bei den 4 Kontrolltieren verläuft die Malaria wieder in gewohnter Weise. Tier Nr. 4 stirbt am 16. Tage nach der Malariaüberimpfung unter dem Bild einer sehr schweren Anämie. Der Herzbeutel ist prall mit gelblicher, klarer seröser Flüssigkeit gefüllt.

In Spalte „*a*" sind die Zahlen der infizierten Erythrocyten in 100 mikroskopischen Gesichtsfeldern des Blutausstriches angegeben, in Spalte „*b*" die Zahlen der infizierten Erythrocyten in einem Gesichsfeld, und zwar gestaffelt von 1—10, 10—20, 20—30. Kreise in Spalte „*b*" bedeuten, daß mehr als 30 infizierte Erythrocyten in einem mikroskopischen Gesichtsfeld vorhanden waren.

Tabelle 2.



Die Oberfläche des Herzens und die Innenseite des Herzbeutels sind spiegelnd und glatt. Das Herz ist auffallend groß, schlaff und dilatiert. Große Leber und Milz, aus denen beim Durchschneiden reichlich blutig-wässerige Flüssigkeit abfließt. Alle Organe sind stark anämisch.

Diesen Befund erhoben wir bei fast allen Hähnchen, die auf dem Höhepunkt der Malaria starben. Unter der schweren Anämie gehen die Tiere an Kreislaufschwäche ein. Die folgende Abbildung zeigt das starke Herzbeuteltranssudat.

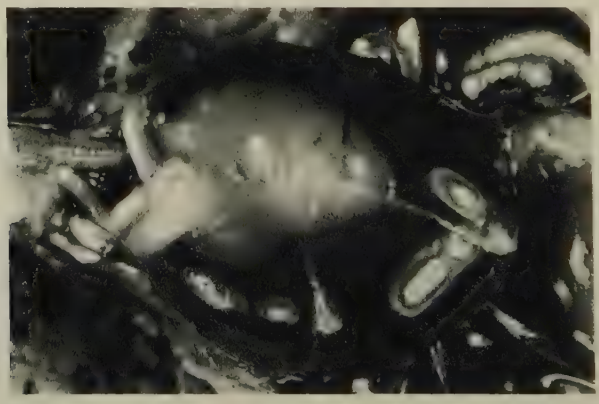
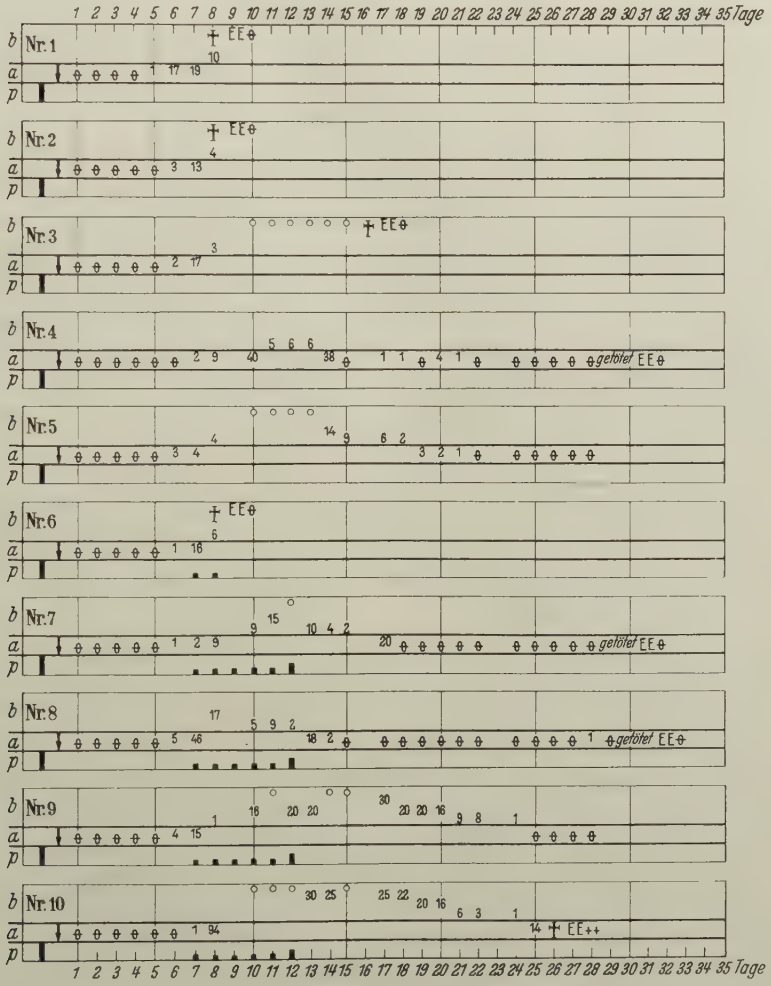


Abb. 1. Herzbeuteltranssudat.

2. 1. Versuchsserie (s. Tabelle 3). Die Tiere Nr. 1–5 der Tabelle 3 werden wie Tier Nr. 7 im zweiten Versuch behandelt, d. h. sie bekommen nur einmal 24 Stunden vor der Malariaüberimpfung eine Palladiuminjektion (1 ccm pro 100 g Körpergewicht).

Die Tiere Nr. 6—10 der Tabelle 3 werden wie Tier Nr. 8 im zweiten Versuch behandelt. Sie bekommen also 24 Stunden vor der Malariaüberimpfung eine Palladiuminjektion (1 ccm pro 100 g Tier) und beim Auftreten der ersten Parasiten im zirkulierenden Blut weitere Palladiuminjektionen

Tabelle 3.



(an 5 aufeinanderfolgenden Tagen je $^1/_4$ ccm pro 100 g Tier und zum Schluß $^1/_2$ ccm pro 100 g Körpergewicht; s. Tabelle 3).

Ergebnis: Die Tiere Nr. 1, 2 und 6 sterben am 8. Tage nach der Malariaübertragung, also bevor noch die Blutinfektion ihren Höhepunkt erreicht hat. Tier Nr. 3 geht am 16. Tage nach der Infektion an einer sehr schweren erythrocytären Malaria ein.

Bei diesen 4 Tieren finden sich bei der Sektion wieder ein starkes Herzbeuteltranssudat, ein großes, schlaffes Herz, gestaute Organe, große Leber und Milz. Außerdem bei Tier Nr. 3 sehr anämische Organe.

Bei den übrigen Tieren der Tabelle 3 ist keine eindeutige Palladiumwirkung auf den Infektionsablauf der Malaria festzustellen.

Die Tiere Nr. 4 und 8 bekommen eine schwache Blutinfektion. Nr. 5 und 7 zeigen einen normalen Malariaverlauf. Bei den Tieren Nr. 9 und 10 ist die Blutinfektion sehr stark und zieht sich ungewöhnlich lange hin, wird jedoch von Tier Nr. 9 überstanden. Tier Nr. 10 stirbt zu der Zeit des Abklingens der Blutinfektion. Im Gehirn dieses Tieres finden sich reichlich exo-erythrocytäre Formen der Malaria.

Zu diesem Versuch muß erwähnt werden, daß die meisten dieser 10 Tiere während der Versuchszeit schwere Erkältungskrankheiten durchmachten, da während der naßkalten Tage zu Ende Oktober 1939 die Heizung in dem Stall für einige Zeit nicht gebrauchsfähig war. Einige Tiere hatten sogar auf dem Gaumen multiple, linsengroße Eiterbeläge. Jacobi wies in einer früheren Veröffentlichung[1] auf Schwankungen im Infektionsablauf der Hühnermalaria hin, die durch Umweltfaktoren bedingt sind. Die Sekundärinfektion bei dieser Serie unserer Versuchstiere kann störend in den Versuchsablauf eingegriffen haben.

3. 2. Versuchsserie (s. Tabelle 4). 10 Tiere erhalten 24 Stunden vor der Malariaübertragung eine Palladiumdosis (1 ccm pro 100 g Tier). An 11 Tagen nach der Infektion bekommen die Tiere weitere Palladiuminjektionen (10mal $^1/_4$ ccm pro 100 g Tier und 1mal $^1/_2$ ccm pro 100 g Körpergewicht; s. Tabelle 4).

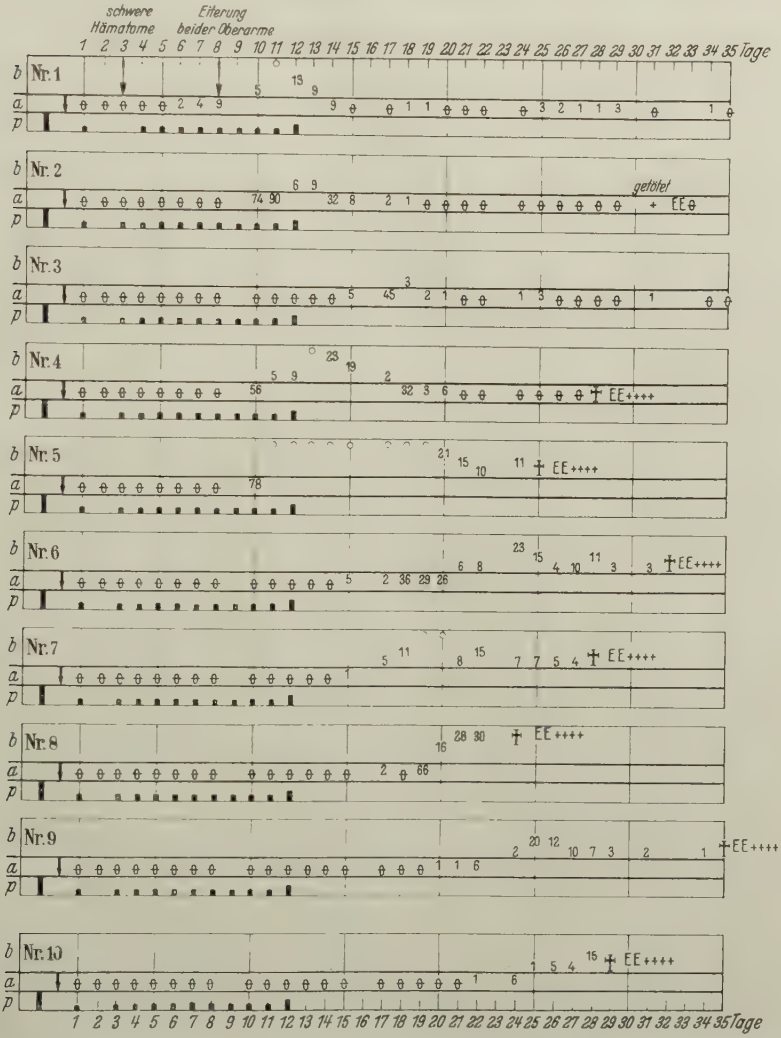
Die vielen intravenösen Injektionen verursachten nur bei Tier Nr. 1 Schwierigkeiten. Bei der dritten Palladiuminjektion wurde das Tier so unruhig, daß es nicht gespritzt werden konnte. An allen Stellen, wo Injektionsversuche gemacht worden waren, bildeten sich bei diesem Tier schwere Hämatome, die 2 Tage später vereiterten. Nach Anlegen von Alkoholverbänden trat allmählich Besserung ein. Wegen dieses Infektes kann Tier Nr. 1 nicht mitgewertet werden (s. vorigen Absatz).

Versuchsergebnis: 1. Die Zeit zwischen der Malariaübertragung und dem Auftreten der ersten Parasiten ist bei allen Tieren verlängert. Während bei den zugehörigen Kontrolltieren (s. Tabelle 2) die Blutinfektion am 5.—7. Tage nach der Malariaüberimpfung beginnt, werden hier die ersten Parasiten im Blute gefunden bei:

3	Tieren	am	10.	Tage	nach	der	Infektion
3	„	„	15.	„	„	„	„
1	„	„	17.	„	„	„	„
1	„	„	20.	„	„	„	„
1	„	„	22.	„	„	„	„

2. Der Ablauf der Blutinfektion gleicht bei den Tieren Nr. 4 und 7 den Kontrolltieren. Tier Nr. 5 bekommt eine besonders starke und langdauernde Blutinfektion. Bei den übrigen Tieren ist die Infektion des Blutes im Vergleich zu den Kontrolltieren gering.

Tabelle 4.



3. Bei allen Tieren werden nur geringe Grade von Oligocytämie beobachtet.

4. Der Allgemeinzustand der Tiere auf dem Höhepunkt der Erkrankung ist ein bedeutend besserer als bei den Kontrolltieren. Unbehandelte Tiere

haben gewöhnlich auf der Höhe der Erkrankung leere Kröpfe. Die Freßlust unserer Versuchstiere ist während der ganzen Versuchszeit auffallend gut.

5. Beobachtung zur Zeit der exo-erythrocytischen Infektion: Einleitend bemerkten wir, daß in der Zeit vom 25.—30. (37.) Tag nach der intramuskulären Malariaübertragung exo-erythrocytäre Parasitenformen, sog. Endothelformen, weiterhin als E.E.-Formen abgekürzt bezeichnet, im Blute und in den Organen der Tiere zu finden sind. An den lebenden Versuchstieren haben wir bisher niemals zu dieser Zeit klinische Krankheitssymptome bemerkt. Dagegen zeigen diese Versuchstiere erstmalig am 23. Tag nach der Malariaübertragung auffallende Veränderungen.

Die Tiere stehen in ihrem Käfig, lassen zeitweise die Flügel hängen, halten den Hals leicht nach vorne gestreckt und die Augen geschlossen. Scheucht man sie auf, so zeigen sie keine Besonderheiten mehr, nehmen aber bald darauf die frühere Körperhaltung wieder ein. Rasch nehmen die Störungen zu. Meist sitzen jetzt die Tiere und spreizen die Flügel leicht ab. Im Stehen machen sich Gleichgewichtsstörungen bemerkbar. Die Tiere schwanken und stützen sich mit den Flügeln auf. Wenig später zeigen die Tiere auch im Sitzen Gleichgewichtsstörungen. Sie sitzen auf den ganzen Beinen, verlegen den Schwerpunkt des Körpers weit nach hinten und stützen sich mit Schwanz und Flügeln auf. Die gekrümmten Zehen, die oft leichte Spastik zeigen, berühren dabei nicht oder nur leicht den Boden. Der Gang ist langsam und schwankend. Die Füße werden oft überkreuz voreinandergesetzt. Spontan wird mitunter dieser geschilderte Zustand für Minuten unterbrochen und das Tier verhält sich geordnet. In einem noch späteren Stadium liegen die Tiere meist schlafend mit gespreizten Flügeln im Käfig, zuweilen den Kopf auf den Boden gelegt. Sobald man aber Futter gibt, fallen die Tiere mit Heißhunger darüber her, obwohl ihr Kropf noch gut gefüllt ist. Jedoch nur einige Male picken die Tiere zu und schlafen dann am Futtertrog ein. Bei einem derartigen Fütterungsversuch kommt ein Tier, das in beschriebener Weise im Käfig lag, rasch auf den Futtertrog zugelaufen, pickt einmal und fällt tot um. Bei 6 Tieren waren endlich schwere Krämpfe zu beobachten, unter denen sie verendeten.

Die Sektion dieser Tiere, die etwas ausführlicher beschrieben werden soll, zeigt bei den 7 gestorbenen Hähnchen übereinstimmend:

Guten Ernährungszustand, Kropf gefüllt.

Gehirn: Strotzend mit Blut gefüllte Venen der Gehirnoberfläche. Auf dem Sagittalschnitt finden sich feine multiple Blutungen im Großhirn und Stammhirn. Größere Blutungen sind im Kleinhirn.

Brust-Bauchhöhle: Bei Eröffnung der Bauchhöhle sieht man die bei hochgetriebener Palladiumspeicherung typische, blaugraue Verfärbung der Organe. Auskleidung der Bauchhöhle und Oberfläche der Därme sind spiegelnd und glatt. In der freien Bauchhöhle sind wenige Tropfen klarer, seröser Flüssigkeit. Die Lage der Organe ist regelrecht. Die Därme sind gut gefüllt.

Herz: Bei allen Tieren ist ausnahmslos der Herzbeutel mit klarer, gelblicher, seröser Flüssigkeit gefüllt. Innenfläche des Herzbeutels und Oberfläche des Herzens sind spiegelnd und glatt. Das Herz ist sehr groß und schlaff. Die Herzhöhlen enthalten viel dunkles, flüssiges Blut. Bei fast allen Tieren sind die Herzkammern, besonders aber die Herzvorkammern, stark erweitert. Tier Nr. 4 der Tabelle 4 zeigt die beschriebenen Herzbefunde in geringerem Grade.

Die Lungen haben hellrote Farbe, normale Oberfläche, die vereinzelt kleine bis hirsekorngroße, dunkle, nicht erhabene Flecke über den Rückenpartien aufweisen.

Die Leber ist bei allen Tieren vergrößert, ihre Oberfläche ist glatt und von dunkler, fast blauschwarzer Farbe. Beim Schnitt durch die Leber fließt reichlich dunkles Blut ab. Gallenblase o. B.

Die Milz ist ebenfalls bei allen Tieren sehr groß. Sie hat glatte Oberfläche von dunkelblaugrauer Farbe. Die Kapsel ist straff gespannt. Beim Schnitt durch die Milz quillt die dunkle, sehr blutreiche Pulpa über die Schnittfläche vor. Deutliche Zeichnung des Gewebes auf der Schnittfläche.

Die Nieren sind wegen ihrer segmentierten langgestreckten Form nicht leicht zu beurteilen. Es scheint aber so, als ob sie vergrößert wären.

Die Hoden entsprechen in ihrer Größe dem Alter der Tiere.

Die Nebennieren sind bei einigen Tieren sehr groß. Sonst finden sich auf der Oberfläche und auf dem Schnitt keine Besonderheiten.

Magen-Darmtraktus und Mesenterium sind ohne Besonderheiten.

Die Lymphknoten längs der großen Halsgefäße sind bei einigen Tieren auffallend klein.

Das Knochenmark der Oberschenkelknochen ist intensiv dunkelrot gefärbt und leicht zerfließlich.

Es ist besonders hervorzuheben, daß bei der Sektion bei keinem dieser Tiere anämische Organe gefunden wurden.

Bei der histologischen Untersuchung, über deren Ergebnisse E. Knoche in der folgenden Arbeit berichtet, finden sich in allen Organen und Geweben massenhaft E.E.-Formen. Vor allem sind die Gehirnkapillaren so vollgestopft mit E.E.-Formen, daß Blutungen durch Gefäßverschluß entstanden sind.

Dieser Befund dürfte die Ursache der eben beschriebenen neurologischen Störungen der Tiere erklären.

6. Die Tiere Nr. 1, 2 und 3 der Tabelle 4 haben die Malaria überstanden und leben weiter. Sie zeigen während der weiteren Beobachtungszeit keine Besonderheiten. Tier Nr. 2 wird zur Kontrolle getötet und untersucht. Außer einer Vergrößerung der Leber und Milz finden sich keine Besonderheiten bei der Sektion. Im Quetschpräparat vom Gehirn sind keine Endothelformen der Malaria zu finden.

Das zu unseren Versuchen benutzte kolloide Palladium enthält als Schutzkolloid protalbinsaures Natrium. Wir haben mit einer 1%igen

wässerigen Lösung von protalbinsaurem Natrium Kontrollversuche gemacht. Es konnte keine Wirkung von protalbinsaurem Natrium auf die Hühnermalaria festgestellt werden, weder auf den Blutinfektionsablauf, noch auf die exo-erythrocytische Infektion.

Ferner haben wir noch andere Stoffe in gleicher Weise untersucht: Lecithin (Merck: Lecithin ex ovo) in 15%iger wässeriger Lösung, Eisenzucker (ferrum albuminatum in lamellis, Merck) in einer 5%igen wässerigen Lösung, endlich die Kombination von Lecithin 15% und Eisenzucker 5% in wässeriger Lösung. Bei allen diesen untersuchten Stoffen war keine eindeutige Wirkung auf den Malariaablauf des Huhnes festzustellen.

Abb. 2. Gehirnausstrich. Giemsafärbung, Gefäße mit E. E.-Formen gefüllt.

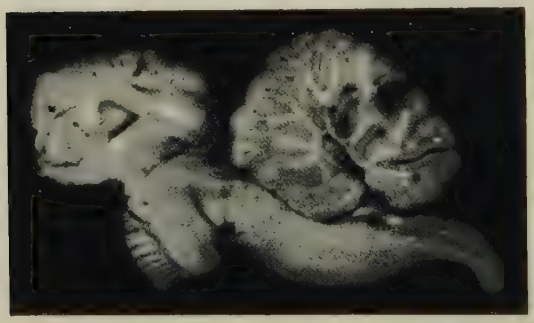


Abb. 3. Gehirnblutung.

Zusammenfassung.

Obwohl es wünschenswert erscheint, die Versuchsergebnisse unter Einhaltung ganz gleicher Bedingungen an einer noch größeren Zahl von Tieren nachzukontrollieren, glauben wir doch folgende Schlußfolgerungen ziehen zu dürfen:

Wird eine genügende Menge einer Lösung kolloiden Palladiums auf dem Höhepunkt der erythrocytären Infektion des Huhnes mit Plasmodium gallinaceum intravenös injiziert, so ist in der Mehrzahl der Fälle ein plötzliches Absinken der Zahl der Parasiten im strömenden Blut zu beobachten.

Wird eine Lösung von kolloidem Palladium intravenös eingespritzt, bevor die ersten Parasiten im zirkulierenden Blut auftreten, so kommt es in der Mehrzahl der Fälle nur zu einer schwachen erythrocytären Infektion.

Werden die Tiere durch intravenöse Injektion kolloider Palladiumlösung vor der Infektion vorbehandelt, so wird in der Mehrzahl der Fälle die Zeit, die zwischen der Infektion und dem ersten Auftreten von Parasiten im zirkulierenden Blut vergeht, verlängert.

Durch mehrfache intravenöse Injektionen kolloider Lösungen von Palladium im Beginn einer Infektion mit Plasmodium gallinaceum entstehen in der Mehrzahl der Fälle ungewöhnlich zahlreiche exo-erythrocytäre Entwicklungsformen, die sich in allen Organen, besonders häufig aber im Gehirn finden. Hierdurch kann es zu schwersten Störungen im Zentralnervensystem kommen. 7 von 9 Tieren starben unter Krämpfen. Der Gefäßverschluß durch E. E. Formen kann zu multiplen Hirnblutungen führen.

Die Oligocytämie auf der Höhe der Erkrankung kann durch frühzeitige intravenöse Injektion koll. Lösungen von Palladium ganz verhindert oder in ihrer Intensität stark vermindert werden. Der Allgemeinzustand der mit Palladium behandelten Tiere erscheint während der erythrocytären Infektion besser als bei den unbehandelten Kontrolltieren.

Durch intravenöse Injektion von koll. Palladiumlösungen gelingt es nicht, ein Auftreten der exo-erythrocytären Formen zu einem früheren Zeitpunkt zu erreichen als dies sonst bei intramuskulärer Infektion zu beobachten ist. Wohl aber erreicht die Entwicklung der E.E.-Formen ein viel größeres Ausmaß, als wir es sonst zu sehen gewohnt sind.

Durch Anwendung anderer Lösungen kolloiden Charakters ist es uns bisher nicht gelungen, ähnliche Ergebnisse zu erzielen.

Allgemein erscheint es nach den vorliegenden Versuchsergebnissen möglich, durch intravenöse Injektion kolloider Lösungen von Palladium den Ablauf der Infektion des Huhnes mit Plasmodium gallinaceum in Richtung der Entwicklung exo-erythrocytärer Formen zu beeinflussen.

Da diese Einwirkung kolloiden Palladiums auf den Ablauf der Infektion zweifellos über das RES geht, ist anzunehmen, daß die auch ohne Palladium zu beobachtenden — allerdings weit geringeren — Schwankungen im Verlauf der Infektion des Huhnes mit Plasmodium gallinaceum abhängig sind vom jeweiligen Funktionszustand des RES. Dies gilt wahrscheinlich nicht nur für Plasmodium gallinaceum, sondern mehr oder weniger auch für die verwandten Malariaplasmodien.

Ferner erscheint uns die Schlußfolgerung berechtigt, daß die exo-erythrocytären Entwicklungsformen von Plasmodium gallinaceum auch von den erythrocytären Formen und nicht nur von den Sporozoiten ihren Ursprung nehmen können.

Bezüglich der Folgerungen, die für den Entwicklungszyklus der Malariaparasiten zu ziehen sind, vgl. Dtsch. med. Wschr. 1940, S. 253—404.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn.
(Direktor: Prof. Dr. Schulemann.)

Zum Problem der exo-erythrocytären Entwicklungsformen von Plasmodium gallinaceum. II.*

Von

E. Knoche.

Mit 7 zum Teil farbigen Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. November 1940.)

Aus der voranstehenden Arbeit von Schulemann und Knoche geht hervor, daß durch intravenöse Einspritzung von kolloidalen Palladiumlösungen der Ablauf der Infektion des Huhnes mit Plasmodium gallinaceum beeinflußt werden kann. In vielen Fällen wurde die Zeit von der intramuskulären Übertragung der Malaria mit parasitenreichem Malariablut bis zum Auftreten der Parasiten im zirkulierenden Blut verlängert und die Parasitenzahl im Blute vermindert. Die Anämie auf dem Höhepunkte der Infektionskrankheit war meist bedeutend schwächer als bei unbehandelten Vergleichstieren. Die exo-erythrocytären Parasitenformen in den Organen — besonders im Gehirn der palladiumbehandelten Tiere — wurden so zahlreich, daß es oft zu schweren neurologischen Erscheinungen bei den Tieren kam und daß diese endlich unter Krämpfen starben. Einzelheiten siehe voranstehende Arbeit.

Ich versuchte die Wirkung von kolloidalem Palladium im Tierkörper an gesunden und malariainfizierten Hähnchen durch histologische Untersuchung zu ergründen.

Aus den zahlreichen Arbeiten über die Vitalfärbung mit sauren Farbstoffen (sie im einzelnen zu zitieren ist überflüssig, da das Buch von Kiyono, Sugiyama und Amano, „Die Lehre von der Vitalfärbung", Kyoto, Japan 1938, einen vollständigen Überblick gibt) ergibt sich:

Werden Lösungen geeigneter saurer Farbstoffe oder in ihren physikochemischen Eigenschaften mit ihnen verwandter Substanzen Säugetieren intravenös injiziert, so gelingt es zwar, die Zellen des RES elektiv durch Speicherung vital zu „färben", aber in Ausbreitung und Intensität der Speicherung bestehen Unterschiede je nach der Natur und Menge der angewandten Substanz, der Häufigkeit der Injektionen und dem Zeitpunkt der Tötung des Versuchstieres.

Wird eine einmalige Injektion einer nicht zu großen Farbstoffmenge ausgeführt und etwa 24 Stunden danach das Tier getötet, so gewinnt man

* Die Arbeit wurde mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (zum Teil mit Mitteln aus dem Roche-Fonds) durchgeführt.

einen Überblick über die gerade bestehende Ausbreitung des RES und kann auch vorsichtige Schlußfolgerungen auf den bestehenden Funktionszustand ziehen. Besonders geeignet sind dazu Farbstoffe von mittlerer Diffusionsgeschwindigkeit, wie insbesondere Trypanblau. „Treibt man jedoch die Färbung hoch" — wie E. E. Goldmann sagt —, indem in Abständen von jeweils einigen Tagen die Farbstoffinjektionen vor der Tötung des Tieres mehrfach wiederholt werden, so kommt es zu mehr oder weniger intensiven Reizungen des RES. Sessile Zellen, denen die Fähigkeit zu speichern fehlte, zeigen Farbstoffspeicherung. Die Zellen wachsen, zeigen Kernteilungen, bilden Riesenzellen oder lassen freie Histiocyten entstehen. Simpson[1] beschreibt, wie es im Extrem zu einer wahren Histiocytämie kommen kann. Schulemann[2] weist darauf hin, daß die Reizung zur Neubildung histiocytärer Zellen eine um so intensivere wird, je mehr der Farbstoff zur Ablagerung in den Zellen neigt. Besonders starke Reizwirkung fand er bei Anwendung kolloidal gelösten Palladiums.

Dementsprechend ergibt sich die Möglichkeit:

1. Durch einmalige intravenöse Injektion von 1%iger Trypanblaulösung und 24 Stunden darauf erfolgende Tötung des Tieres einen Überblick über den jeweils bestehenden Zustand der Ausbreitung und auch — allerdings mit Vorsicht — der Funktion des RES zu gewinnen. Dieses Verfahren bezeichne ich im folgenden kurz als „akute Vitalfärbung", durch das gleichsam die Zellen gleicher Funktion (Phagocytierungsvermögen) einheitlich signiert werden.

2. Durch „chronische" Injektion, d. h. Einspritzung der Farbstofflösung in Intervallen von je mehreren Tagen gelingt es, eine Reizung des RES durchzuführen im Sinne einer Vermehrung sowohl der sessilen wie mobilen Zellen und einer Steigerung ihrer phagocytierenden Fähigkeiten. Es muß aber ausdrücklich darauf hingewiesen werden, daß bisher keine eindeutigen Beweise dafür vorliegen, daß eine solche Steigerung der Phagocytose auch gleichbedeutend ist mit einer allgemeinen Steigerung der Abwehrkräfte, d. h. Verarbeitung der phagocytierten Substanzen — oder Parasiten — und vermehrter Produktion von Abwehrstoffen.

3. Wird diese Reizung durch „chronische" Injektion eines sauren Farbstoffs mittleren Diffusionsvermögens durchgeführt, so betrifft sie — allerdings in verschiedenem Ausmaß — alle RE-Zellen des Körpers. Verwendet man aber Farbstoffe oder Metallkolloide, die praktisch kein Diffusionsvermögen haben, so ist — örtlich verschieden je nach der angewandten Applikationsart — die Reizwirkung lokal begrenzt, z. B. bei intravenöser Injektion auf die Uferzellen der Blutbahn.

Bei den Versuchen, über deren Ergebnis ich im folgenden berichte, baute ich auf diesen Voraussetzungen auf.

---

[1] J. med. Res. (Am.) **43**, 77—144 (1922). — [2] Biochem. Z. **80**, 44 (1917).

Zunächst ergaben sich einige technische Schwierigkeiten. Schon Kiyono (c. f. S. 20) weist darauf hin, daß es schwer ist, Vögeln größere Flüssigkeitsmengen intravenös zu injizieren und daß die Farbstofflösungen oft schlecht vertragen werden. Mit einer gebogenen Nadel und Spritzen mit seitlichem Ansatz gelingt die Injektion aber meist glatt. Anfänglich starben die Tiere oft an Embolien, wenn 1%ige kaltbereitete, filtrierte Lösungen injiziert wurden. Die so bereiteten Lösungen sind grob dispers und zeigen im Dunkelfeld zahlreiche Ultramikronen. Als ich sie entsprechend den Arbeiten von W. Biltz [referiert bei Schulemann: Biochem. Z. **80**, 93—98 (1917)] vor der Injektion 2—3 Stunden am Rückflußkühler kochte, wurden die Lösungen optisch leer und damit intravenös injiziert verträglich.

Von Essmeyer* wurde nun das Verhalten des RES des Huhnes gegenüber Vitalfärbung mit Trypanblau untersucht, sowohl bei „akuter" wie „chronischer" Injektion. Über das Ergebnis haben Schulemann und Knoche in der voranstehenden Arbeit berichtet, so daß im folgenden darauf Bezug genommen werden kann.

Ich selbst untersuchte das Verhalten des RES des Huhnes gegenüber intravenöser Injektion kolloider Lösungen von Palladium:

Vorversuche zeigten, daß Lösungen von kolloidalem Palladium, selbst in hoher Konzentration und großen Mengen, auch über längere Zeit öfters intravenös gespritzt, von den Hühnern ohne erkennbare Störung gut vertragen werden. Die Freßlust der Tiere wird sogar gesteigert. Die Dosis tol. max. liegt so hoch, daß ich sie aus Ersparnisgründen nicht feststellte. Zu den Versuchen wurde eine 1%ige wässerige Lösung von kolloidalem Palladium benutzt. Die Substanz war von der I. G. Farbenindustrie A.-G. bezogen worden. Auf Grund der oben geschilderten Erfahrungen mit Trypanblau kochte ich auch die Palladiumlösung mehrere Stunden vor der intravenösen Injektion am Rückflußkühler und injizierte nach Filtration durch ein angefeuchtetes Papierfilter und Abkühlen der Lösung auf 40° C (Vogeltemperatur) intravenös.

I. Hähnchen, 0,66 kg, erhält 6,6 ccm 1%ige wässerige koll. Palladiumlösung intravenös. Nach 24 Stunden durch Chloroform getötet. Sektion: Die Organe sind leicht rauchgrau verfärbt. Leber und Milz dunkel gefärbt. Fixation der Organe mit 10%igem Formalin. Mikroskopische Untersuchung: Paraffinschnitte, Alaun-Carmin-Gegenfärbung.

Leber: Grobkörnige Speicherung von Palladium in den Kupfferschen Sternzellen. In der Peripherie der Leberazini haben die Sternzellen stärker gespeichert als zentral. Die Leberzellen selbst enthalten kein Palladium.

Knochenmark: Feinkörnige Speicherung in den Wandzellen der Gefäßkapillaren. Große, runde Zellen im Knochenmark haben sich mit feinen Palladiumgranula beladen. Weiter findet sich im Knochenmark Palladium, wobei nicht zu entscheiden ist, ob es intra- oder extrazellulär liegt.

* Inaug.-Diss. Bonn 1939.

Milz: Enthält in dem Blutgefäßsystem viel Palladium, zum Teil in dem Protoplasma der Wandzellen, zum Teil freiliegend. Zellen der Milzpulpa enthalten ganz feine Palladiumkörnchen.

Herz: Ist frei von Palladium, die ernährenden Gefäße des Herzens enthalten kein Palladium.

Niere: In einigen Glomeruli finden sich Palladiumkörnchen, ferner in den Blut-Kapillarwandzellen zwischen den Harnkanälchen.

Lunge: In den Lungenkapillaren sind vereinzelte Zellen mit Palladium beladen. An einigen Stellen haben auch die Kapillarwandzellen selbst Palladium gespeichert.

Darm: Von den Wandzellen der Blutkapillaren, die im Strome der Darmzotten verlaufen, ist Palladium in feinkörniger Form gespeichert, besonders im Gebiet der Darmzottenbasis.

Gehirn: Enthält kein Palladium, auch nicht in seinen Gefäßen. Nur der Plexus chorioideus enthält einige Granula.

Wie beim Säugetier wird also auch beim Huhn kolloidales Palladium bei intravenöser Gabe nur in den Uferzellen der Blutbahn gespeichert.

Wie bereits durch Essmeyer gezeigt worden ist, gelingt es, durch „chronische" Injektion von Trypanblau — also mehrere Injektionen in Abständen von je einigen Tagen — auch beim Huhn größere Ausbreitung des RES zu erreichen und die Speicherung in den ihm zugehörigen Zellen zu vermehren. Um ein Urteil darüber zu gewinnen, wie stark eine einmalige intravenöse Palladiumgabe das RES „aktiviert", gab ich einem Hähnchen gleichen Alters wie im vorhergehenden Palladiumversuch dieselbe Menge Palladium pro Gewichtseinheit intravenös. 24 Stunden später eine aus früheren Versuchen bekannte Dosis Trypanblau (0,7 ccm einer 1%igen wässerigen Lösung von Trypanblau pro 100 g Tier) intravenös. Nach weiteren 24 Stunden wurde das Tier getötet und histologisch untersucht. Durch das gespritzte Trypanblau sollen alle Zellen des RES „signiert" werden, um das RES in seiner gesamten Ausbreitung zu kennzeichnen:

II. Hähnchen, 0,74 kg, erhält

am 5. 10. 7,4 ccm 1%ige wässerige koll. Palladiumlösung intravenös,
am 6. 10. 5,1 ccm 1%ige wässerige Trypanblaulösung intravenös,
am 7. 10. Tötung des Tieres durch Chloroform.

Organfixation mit 10%igem Formalin. Paraffinschnitte, Alaun-Carmin-Gegenfärbung.

Leber: Die Leberzellen enthalten feine Trypanblaugranula. (Das findet man auch, wenn man nur Trypanblau spritzt, bedeutet also nichts Besonderes.) Starke Vergrößerung der Kupfferschen Sternzellen mit Speicherung von Palladium und Trypanblau. In den Blutkapillaren der Leber befinden sich sehr viele trypanblaubeladene Histiocyten, die auch zahlreich im strömenden Blut der venae zentrales anzutreffen sind.

Knochenmark: Zeigt reichliche Trypanblau- und Palladiumablagerung. Das funktionelle Knochemmarksgewebe ist ungewöhnlich zellreich.

Herz: In den Blutkapillaren des Herzmuskels stecken zahlreiche trypanblaugefärbte Histiocyten. Ferner kommen im Interstitium des Herzmuskels Histiocyten mit Trypanblau beladen vor.

Gehirn: Das Gehirn und seine Gefäße haben auch diesmal weder Palladium noch Trypanblau gespeichert. Nur der plexus chorioideus enthält Farbstoffgranula.

Lunge: Farbstoffbeladene Zellen in den Kapillaren des interalveolaren Gewebes.

Die weiterhin untersuchten Organe (Milz, Niere, Darm) weisen reichlich Histiocyten auf, die Trypanblau gespeichert haben.

Vergleichen wir die Ergebnisse von Versuch I und II, so findet sich im zweiten Versuch eine erhebliche Vermehrung der Zellen, die Palladium, Trypanblau oder aber beide Substanzen gleichzeitig in ihrem Protoplasma enthalten, und zwar gilt das sowohl für die Ausbreitung der sessilen wie mobilen (Histiocyten) Zellelemente. Der Unterschied in beiden Versuchen liegt darin, daß in Versuch I das Tier 24 Stunden nach der Injektion, in Versuch II 48 Stunden nach der Injektion der Palladiumlösung getötet wurde. Es war also genügend Zeit vergangen, um die Reizwirkung des Pd zur Auswirkung kommen zu lassen. In Versuch II kann zusätzlich noch eine gewisse Reizung durch die injizierte Trypanblaulösung dazukommen. Sie ist aber nach allen vorliegenden Erfahrungen sicher unbeträchtlich.

Ein Vergleich der Ergebnisse von Versuch I und II mit den von Essmeyer nur mit Trypanblaulösung durchgeführten Versuchen läßt die „Reizwirkung" der Palladiumlösung auf das RES deutlich erkennen.

Nur wenn eine „chronische" Speicherung des RES durch mehrfach aufeinanderfolgende Injektionen von Trypanblaulösung durchgeführt wird, gelingt es mit Trypanblau eine ähnlich starke „Aktivierung" des RES zu erreichen wie mit einer einmaligen Injektion einer kolloiden Palladiumlösung.

Zur Klärung der Frage, wie die günstige Wirkung von kolloidalem Palladium auf die Hühnermalaria zustande kommt, mußte ich mich zuerst über die Vorgänge im RES des Huhnes bei einer Malariainfektion (Plasmodium gallinaceum) orientieren:

III. Auf dem Höhepunkt der Malaria gab ich einem Hähnchen wieder, wie oben beschrieben, eine „Signaturdosis" Trypanblau intravenös und tötete das Tier 24 Stunden später durch Chloroform. Bei einer bestehenden Malaria wird Trypanblau sehr schlecht von den Versuchstieren vertragen. Es starben viele Tiere bei diesem Versuch.

Formalinfixation der Organe. Paraffinschnitte, Alaun-Carmin-Gegenfärbung, ferner Giemsa-Färbungen und Hämatoxilin-Eosin.

Leber: Die vergrößerten Kupfferschen Sternzellen enthalten sehr viele gelbbraune (Hämoglobinderivate) und schwarzbraune (Malariapigmente), grobkörnige Ablagerungen neben Trypanblau. Ferner enthalten diese Zellen häufig ganze Erythrocyten— oder auch nur Bruchteile — solcher mit Malariaparasiten. In diesen Fällen sind die Sternzellen besonders groß und plump geworden.

In ihrem Zelleib findet sich oft eine Vakuole, in der die phagocytierten Elemente liegen. Häufig lösen sich so beladene Zellen aus ihrem Zellverband und gelangen in die freie Blutbahn, wo sie eine runde Form annehmen. In den Kapillaren zwischen den Leberbälkchen und im Blute der venae zentrales sind diese Zellen in

großer Anzahl zu finden. Losgelöste Zellen des RES, Histiocyten, die in ihrem Plasma einen infizierten Erythrocyten enthalten, kann man auch im Blutausstrich malariakranker Hühner finden.

Knochenmark. Enthält viele Zellen mit Trypanblau, Zelltrümmern und dunklen Pigmenten. Das funktionelle Knochenmarkgewebe ist zellärmer als normal. Die Zellen sind groß und weisen viele Kernteilungsfiguren auf.

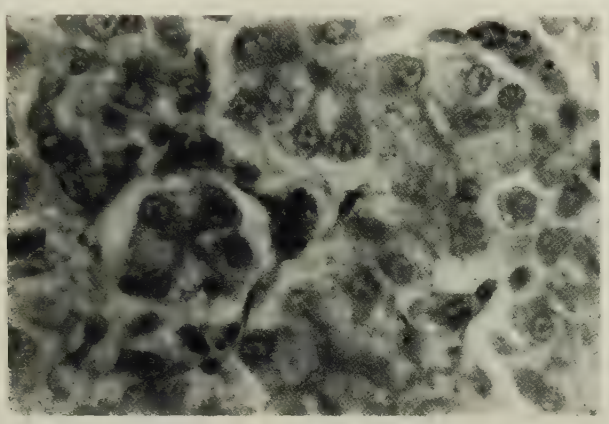


Abb. 1. Leberschnitt. Malariainfektion. Sternzelle. Alaun-Carmin-Gegenfärbung.

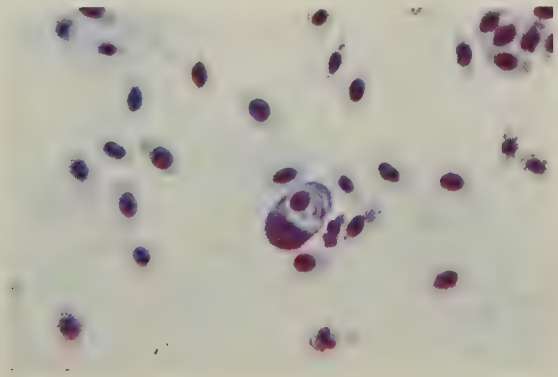


Abb. 2. Freier Histiocyt mit phagocytiertem infiziertem Erythrocyten. Blutausstrich Giemsa-Färbung.

Milz: Die Milz ist sehr blutreich und enthält reichlich dunkle Pigmente in grober und feiner Körnerform, zum Teil freiliegend, zum Teil zellgebunden an Phagocyten. Letztere enthalten vielfach Kerntrümmer und auch gut erhaltene infizierte Erythrocyten. In den Gefäßen stecken große, runde Histiocyten, die Trypanblaukörnchen, dunkle Pigmente und rot gefärbte Kerntrümmer enthalten.

Lunge: In den interalveolären Kapillaren finden sich große Zellen, die sehr stark phagocytiert haben. An einigen Stellen ist das Lungengewebe dicht mit solchen Zellen, Zelltrümmern und Pigmenten angefüllt. Daneben enthält die Lunge bronchopneumonische Veränderungen.

Niere: Enthält neben der üblichen Trypanblauablagerung in den Epithelzellen der Harnkanälchen reichlich trypanblaugefärbte Histiocyten im Gefäßsystem.

Im Blut der vena cava inf. sind die Histiocyten so zahlreich, daß sie haufenförmig zusammenliegen. Diese blasigen Zellen, deren Kern oft noch gut zu erkennen, häufig aber sehr verwaschen ist, enthalten in ihrem Zellplasma sehr starke Ablagerungen von Abbauprodukten des infizierten Blutes.

Gehirn: Wie in allen Organen sieht man im strömenden Blute der Gehirngefäße infizierte Erythrocyten. Es finden sich aber keinerlei Einschlüsse in den Kapillarwandzellen des Gehirns.

Evans, Simpson, Siegmund u. a. haben gezeigt, daß bei Vitalfärbungen die Mehrzahl der Zellen des RES, die sich mit Farbstoff beladen haben und ins zirkulierende Blut gelangen, von der Lunge abgefangen und vernichtet werden. Dasselbe finden wir hier bei der Malariaerkrankung des Huhnes wieder. Da die „Vitalfärbung" mit Abbauprodukten des malariakranken Blutes so intensiv und chronisch ist, wie es durch injizierte Vitalfarbstoffe kaum erreicht wird, so ist auch die Menge der Bluthistiocyten, die von der Lunge verarbeitet werden muß, bei der Malaria sehr groß. Die beschriebenen Anhäufungen von Zelltrümmern in der Lunge unserer Versuchstiere beweisen, wie stark die Lunge durch das große Materialangebot überlastet ist.

Die Atemstörungen, die die meisten Malariahähnchen auf dem Höhepunkt der Erkrankung haben, beruhen sicher neben der Kreislaufschwäche, auf die wir in unserer früheren Arbeit eingegangen sind, mit auf dieser Lungenbelastung. Die Entstehung von Pneumonien, von denen die malariakranken Tiere so leicht in naßkalten Jahreszeiten befallen werden, ist natürlich in solchen Lungen viel leichter möglich.

Bei einer Malaria werden parasitenhaltige Erythrocyten und deren Zerfallsprodukte dem RES chronisch und in großer Menge zur Speicherung angeboten. Der Reichtum der Gewebe an trypanblaugefärbten Histiocyten beweist, daß das RES sehr aktiv ist. Die histologische Untersuchung läßt das große Speicherungsvermögen der Phagocyten erkennen. Die Zellen können noch so stark mit Blut- und Malariapigmenten beladen sein, aus der 24 Stunden vor der Tötung des Tieres gegebenen Trypanblaulösung haben sie trotzdem noch blaue Körnchen aufnehmen können.

Es erhellt die große Bedeutung des RES bei einer Malariainfektion. Nicht nur Bruchstücke und Abbauprodukte der zerstörten parasitenhaltigen Blutelemente werden von dem RES aus der Blutbahn abgefangen, sondern auch ganze Erythrocyten mit Parasiten.

Versuch einer Erklärung der Palladiumwirkung auf den Verlauf der Hühnermalaria.

1. Durch intravenöse Injektion von Palladiumlösung wird das RES des Huhnes aktiviert, d. h. die Zahl der phagocytierenden Zellen vermehrt und die Fähigkeit zu phagocytieren bei den einzelnen Zellen vergrößert. Wird dann das Tier mit Malaria infiziert, so ist zu erwarten, daß von den

Zellen des RES eine größere Zahl infizierter Erythrocyten aus der Blutbahn abgefangen werden kann, als dies bei einem nicht vorbehandelten Tier möglich ist.

Dadurch werden Befunde verständlich, die in der voranstehenden Arbeit von Schulemann und Knoche mitgeteilt wurden. Infiziert man einen Hahn intramuskulär mit parasitenhaltigem Blut, so findet man beim Normaltier etwa zwischen dem 5. und 8. Tag die ersten Parasiten im Blutausstrich. Wird aber vor der Infektion und dann noch einige Male nach erfolgter Malariainfektion Palladiumlösung intravenös gegeben, so ist bei einer großen Zahl von Versuchstieren die Zeit zwischen der Infektion und dem Auftreten der ersten Parasiten in den Erythrocyten des strömenden Blutes verlängert. Bei einem Versuchstier erschienen die Blutparasiten sogar erst am 17. Tage.

Es scheint also, daß bei diesen palladiumbehandelten Tieren die malariainfizierten Erythrocyten von den Zellen des vorher aktivierten RES rascher und in größerer Zahl abgefangen werden, als dies sonst der Fall ist.

In manchen der Versuche kam die erythrocytäre Infektion bei den Palladiumtieren geringer als sonst zur Entwicklung. In anderen Fällen aber trat sie auch bei den Palladiumtieren in voller Stärke auf, allerdings zu einem späteren Zeitpunkt nach der Infektion, als dies beim Normaltier der Fall ist. Eine absolute Regelmäßigkeit des Infektionsablaufs war von vornherein nicht zu erwarten, da die Empfindlichkeit des RES bei den einzelnen Versuchstieren nie absolut gleich ist. Es kann in keinem Fall vorausgesehen werden, ob und wieweit bei dem Verlauf der Infektion das RES des Individuums in seiner Fähigkeit zu phagocytieren aktiv bleibt oder allmählich ermüdet.

In anderen Fällen wieder, in denen wir auf dem Höhepunkt der Blutinfektion Lösungen kolloidalen Palladiums injizierten, verschwanden die malariainfizierten Erythrocyten sehr schnell aus dem zirkulierenden Blut.

2. Auf dem Höhepunkt der Malaria bekommen die Hühner fast immer eine starke Oligocytämie, die oft lange anhält. Bei unseren palladiumbehandelten Malariahähnchen trat überhaupt keine Oligocytämie auf oder sie war sehr schwach und von kurzer Dauer. Histologisch zeigten wir oben, daß Palladium im Knochenmark zu finden ist, und daß durch die Reizwirkung des Palladiums das funktionelle Knochenmarksgewebe sehr zellreich wird. Dieser biologische und histologische Befund zusammen beweisen, daß durch kolloidales Palladium die Blutregeneration gefördert wird.

Wenn es richtig ist, daß bei einer bestehenden Malaria die neugebildeten, jungen Erythrocyten nicht oder geringer für Malariaparasiten anfällig sind (hierfür haben wir bisher noch keine sicheren Beweise, jedoch sprechen einige Beobachtungen aus unserem Institut dafür), so könnte man sich das rasche Abklingen der Malaria nach einer einmaligen großen Palladiuminjektion, wie wir es in unserer früheren Arbeit beschrieben haben, so erklären, daß durch erhöhte Neubildung junger, immuner Erythrocyten die

Zahl der Parasiten im strömenden Blut relativ und durch die angeregte Phagocytose des RES absolut abnimmt. Soll diese Vermutung aber bewiesen werden, so ist die Durchführung weiterer Versuche unbedingt notwendig.

3. Weiterhin bleibt zu erklären, aus welchen Gründen bei den mit kolloidaler Palladiumlösung behandelten Hähnen oft eine so starke Entwicklung von exo-erythrocytären Parasitenformen (E. E.-Formen) zu beobachten ist.

a) In der Literatur über Vitalfärbung findet man nie eine Angabe darüber, daß von den Endothelzellen der Gehirnkapillaren saure Farbstoffe gespeichert werden. Auch ich sah bei meinen akuten und chronischen Vitalfärbungen von Säugetieren sowohl wie von Hühnern mit Trypanblau.

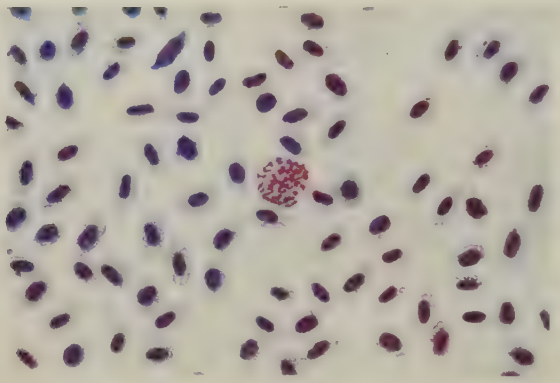


Abb. 3. Freie E. E.-Form von Pl. gallinac. in strömendem Blut. Ausstrich Giemsa-Färbung.

Toluylenrot und einer Reihe anderer saurer Farbstoffe, ferner mit Gold und Palladium, niemals Farbstoffe oder Metallkolloide in Zellen von Gehirnkapillaren. Selbst wenn ich 48 Stunden vor der Farbstoffinjektion kolloidales Kupfer spritzte, wonach es nach vorübergehender „Blockade" zur Aktivierung des RES kommen soll, waren die Wandzellen der Gehirnkapillaren vollständig frei von Farbstoffen. Niemals habe ich in den Wandzellen von Gehirnkapillaren bei Malariahühnern eine Phagocytose von Malariapigmenten oder von Parasiten beobachtet, während das RES der Leber, Milz usw., also das RES im engeren Sinne, von diesen Substanzen vollgepfropft ist.

b) Zur Zeit aber, zu der man im Gehirn E. E.-Formen findet, trifft man solche auch im strömenden Blut. Wir sahen sie auf Blutausstrich-Präparaten im Protoplasma eines wohlerhaltenen Histiocyten. Häufig finden sie sich auch losgelöst von der Zelle. Ferner fanden wir sie im Schnittpräparat in größeren Gefäßen des Gehirns zwischen den Erythrocyten liegen, oft auch war zu sehen, daß sie gerade im Begriffe waren, aus einem größeren Gefäß in eine Kapillare einzuwandern.

Einige Schwierigkeiten sehe ich darin zu erklären, wie im Gehirn Kapillarembolien durch mit E. E.-Formen infizierte Histiocyten entstehen können, wissen wir doch aus den Arbeiten von Evans, Simpson und Siegmund, daß schon ein großer Teil der in Milz, Leber usw. entstehenden Histiocyten in den Kapillaren der Lunge abgefangen wird. Diesem Abfangen in der Lunge müssen ja auch besonders solche Histiocyten aus-

Abb. 4. Kapillare im Gehirnausstrich. Giemsa-Färbung. Enthält von links nach rechts
1. jugendliche E. E.-Form in einem Histiocyten,
2. nicht infizierten Erythrocyten,
3. ältere E. E.-Form in einem Histiocyten, daneben deutlich getrennt das normale Gefäßendothel.

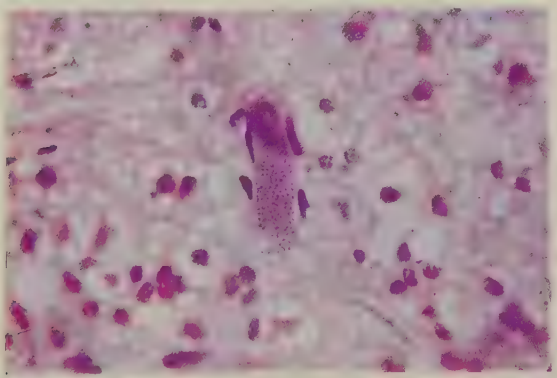


Abb. 5. Gehirnschnitt. Alauncarmin. In Kapillare Histiocyt, der eine ältere E. E.-Form enthält. Deutlich davon getrennt das normale Gefäßendothel.

gesetzt sein, die durch Aufnahme infizierter Erythrocyten und durch Entwicklung von E. E.-Formen eine besondere Größe erreicht haben. Es ist aber die Annahme nicht von der Hand zu weisen, daß manche Histiocyten erst jenseits der „Lungensperre" infizierte Erythrocyten phagocytieren und daß in die Gehirnkapillaren eingeschwemmte E. E.-Formen, die in

Histiocyten liegen, sich dort weiter entwickeln, so daß auf diese Weise der Kapillarverschluß zustande kommt.

c) In histologischen Schnitten und Quetschpräparaten von Gehirnen malariakranker Hühner ist deutlich zu erkennen, daß die Malariaendothelformen im Lumen der Gehirnkapillaren unabhängig von den Kapillarwandzellen liegen.

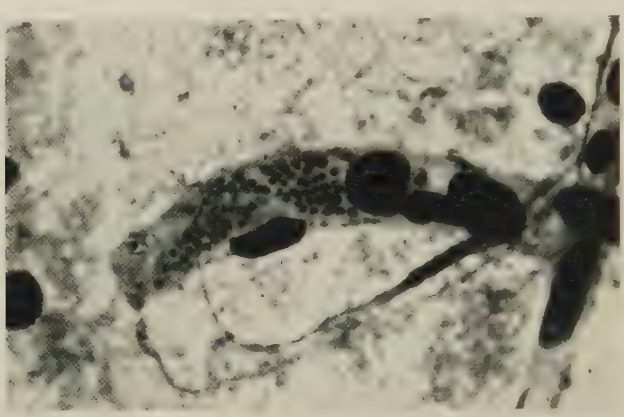


Abb. 6. Gehirnausstrich. Giemsa-Färbung. In der Kapillare deutlich getrennt vom normalen Endothel ein mit einer E. E.-Form infizierter Histiocyt.

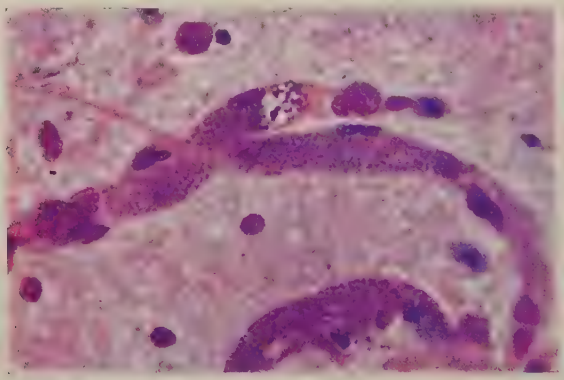


Abb. 7. Gehirnausstrich. Giemsa-Färbung, massenhaft E. E.-Formen in den Kapillaren. Ein infizierter Histiocyt enthält auch Pd-Granula. Im Gefäßendothel keine Parasiten und keine Pd-Granula.

d) Die E. E.-Formen im Gehirn sind in der Mehrzahl der Fälle an einem Ende mit einer Zelle oder einem Zellrest fest verbunden. Es handelt sich dabei nicht um eine Kapillarwandzelle, sondern die Zelle liegt in dem Kapillarlumen selbst; die Wandzelle der Blutkapillare ist daneben gut zu erkennen, oft durch einen Spalt isoliert. In solchen Zellen fand ich, wenn ihr Plasma noch erhalten war, Palladium und andere während der Infektion injizierte Vitalfarbstoffe. Diese Zellen können nach den früheren Ausführungen nur aus dem RES im engeren Sinne (Aschoff) stammen.

e) Nicht in allen Fällen ist es möglich, insbesondere wenn die E. E.-Formen zu großen Gebilden ausgewachsen sind, nachzuweisen, daß sie mit irgendwelchen Resten von Zellen (Histiocyten) in Verbindung stehen. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß die E. E.-Formen – vielleicht wenn sie erst eine gewisse Größe erreicht haben – sich auch außerhalb von Zellen weiter entwickeln können. Weitere Untersuchungen über dieses Problem aber erscheinen um so wünschenswerter, als die Frage noch offen steht, ob die E. E.-Formen, die sich aus Sporozoiten entwickeln, diese Entwicklung stets erst intrazellulär durchmachen, oder ob diese Formen von vornherein entsprechend den Versuchsergebnissen von Missiroli* sich zunächst extrazellulär zu pigmentfreien Formen entwickeln und nur zum Teil von Histiocyten aufgenommen werden. Auch Schulemann erscheint es nach seinen Versuchen wahrscheinlich, daß eine Entwicklung von E.E.-Formen sowohl extrazellulär wie in Histiocyten möglich ist, gleichgültig von welchen Zellen (Sporozoiten oder Merozoiten) die E.E.-Formen ihren Ursprung nehmen.

In diesem Zusammenhang sei betont, daß die im Vorstehenden geschilderten histologischen Untersuchungsergebnisse nur am Hahn, der mit Plasmodium gallinaceum infiziert wurde, erhoben worden sind. Bei diesen Parasiten scheinen die E.E.-Formen allein von den Zellen des RES aufgenommen zu werden. Für andere Malariaparasiten der Vögel wird z. B. insbesondere von Manwell und Goldstein** beschrieben, daß auch andere Gewebszellen E.E.-Formen aufnehmen können und daß diese sich in ihnen weiter entwickeln.

Zusammenfassung.

Für die Infektion des Huhnes mit Plasmodium gallinaceum ist nach den vorliegenden Untersuchungen anzunehmen, daß nach der intramuskulären Injektion parasitenhaltiger Erythrocyten sich zunächst eine erythrocytäre Infektion ausbildet. Ein Teil der infizierten Erythrocyten wird von den Zellen des RES aufgenommen, die Mehrzahl derselben dürfte vernichtet werden. Nur ein kleiner Teil von ihnen entwickelt sich zur exo-erythrocytären pigmentfreien Form weiter.

Wird durch intravenöse Injektion von kolloidalem Palladium das RES aktiviert im Sinne einer Ausdehnung und einer Verstärkung der Fähigkeit zu phagocytieren, so wird eine größere Zahl infizierter Erythrocyten von den Zellen des RES phagocytiert, als dies unter normalen Verhältnissen geschieht. Damit ist die Möglichkeit zu vermehrter Entwicklung exo-erythrocytärer Formen gegeben, während die erythrocytäre Infektion abgeschwächt wird.

* Missiroli: Riv. d. Parassitol. **4**, 69 (1940).
** Manwell u. Goldstein: Amer. J. trop. Med. **19**, 279 (1939).

Aus der pharmakologischen Abteilung der Knoll A.-G., Ludwigshafen a. Rh.
(Leiter: Dr. med. habil. Dr. phil. W. Biehler.)

Über die gegenseitige Beeinflussung der Wirkungen von Cardiazol und Spartein.*

Von

Ferd. Schnittspahn.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. November 1940.)

Es hat sich für das Spartein wie für manches andere Heilmittel sehr ungünstig ausgewirkt, daß es mit falscher Indikationsstellung — nämlich als Digitalisersatz — in die Therapie eingeführt wurde [G. Sée (1)]. Notwendigerweise versagte das Mittel in vielen Fällen und geriet dadurch in den Ruf der Unzuverlässigkeit. In Deutschland versuchte Fr. Hildebrandt (2) seiner klinischen Anwendung eine neue Grundlage zu verschaffen, indem er die Verlängerung der Überleitungszeit ins therapeutische Blickfeld rückte. Allein die hierfür notwendige Höhe der Gaben in der Nähe der toxischen Grenze ließ nicht zu, das Spartein als brauchbares Analogon zum Chinin zu betrachten [Bohnenkamp und Fr. Hildebrandt (3)], womit es an klinischem Interesse verlor. Hieran vermochte auch die Feststellung seiner ausgezeichneten flimmerwidrigen Wirkung durch Kreitmair und Sieckmann (4) nichts zu ändern, wenigstens nicht in Deutschland. In Frankreich und England freilich wurden Gebrauch und Analyse des Sparteins immer weitergetrieben [Heathcote (5), Crawford (6), Mercier (7), Mercier und Cherbouliez (8)]. Die Ansicht dieser Forscher geht heute allgemein dahin, daß Spartein das Herz von äußeren nervösen Reizen isoliere. Dies braucht nicht, wie Romm und Krister (9) befürchten, zu einer schnelleren Ermüdung und rascheren Erschöpfung der Reservekräfte zu führen. Im Gegenteil wird vielmehr der gegenüber einer durch Acceleranserregung übermäßig beschleunigten Aktion (nervöses Herz) sich durchsetzende langsamere Rhythmus [Laborde und Légris (10)] eher eine Schonung des Herzens bedeuten.

Immerhin haften dem Spartein eine Reihe ungünstiger Nebenwirkungen an (z. B. Gefahr der Atemlähmung, Verengerung der Coronargefäße), deren Beseitigung durch Zufügen eines entsprechenden Antagonisten man auf pharmakologischem Wege versuchen könnte. Von Praktikern war nun bereits eine Kombination mit Cardiazol vorgeschlagen und über gute Ergebnisse berichtet worden. Wenn auch bei diesem Vorschlag sicherlich

* Von der Med. Fakult. d. Univ. München als Inaugural-Dissertation angenommen.

eine unrichtige Voraussetzung (Verbindung des „Herzmittels" Spartein mit dem „Herzmittel" Cardiazol) Pate gestanden hatte, schien doch bei näherer theoretischer Überlegung die Kombination nicht so sinnlos und die guten Ergebnisse möglich. Aus diesem Grunde wurde eine erste Durchforschung des Verhaltens der Mischung von Cardiazol und Spartein durchgeführt.

Zunächst wurde die Frage einer möglichen antagonistischen Wirkung tödlicher Spartein- bzw. Cardiazolgaben in ihrer ganzen Breite untersucht. Verschiedene Gaben von Spartein + Cardiazol in wechselnden Mischungsverhältnissen wurden weißen Mäusen subcutan verabreicht und der prozentische Anteil an toten Tieren festgestellt. Über die Zahl der jeweils verwendeten Tiere und das Ergebnis unterrichtet Tabelle 1 bzw. Abb. 1.

Tabelle 1.

Spartein + Cardiazol in mg pro kg		Tiere	† %	Spartein + Cardiazol in mg pro kg		Tiere	† %
130		20	100	100	35	30	80
125		20	65	70	35	40	10
120		42	57	115	45	30	90
100		20	10	60	45	40	25
120	5	30	50	70	50	30	33
160	10	10	100	90	65	30	67
140	10	20	85	35	65	40	10
130	10	40	78	110	75	30	93
120	10	30	15	60	75	30	60
80	10	10	0	10	80	40	63
130	20	20	65	70	90	30	87
120	20	30	33	35	90	30	94
90	20	40	30		75	30	30
120	30	30	83		85	40	50
80	30	20	40		100	30	70

Abb. 1 zeigt zunächst die mittlere tödliche Spartein- mit der mittleren tödlichen Cardiazoldosis durch eine Gerade verbunden. Auf ihr müßten auch für alle entsprechenden Mischungsverhältnisse beider Körper die mittleren tödlichen Dosen liegen, wenn sich die Wirkungen beider Substanzen einfach addieren würden. Man sieht jedoch nach graphischer Interpolation der Dlm. sofort, daß zwei Bezirke gegenseitiger Entgiftung zu beobachten sind, deren einer bei Spartein : Cardiazol wie 10 : 1 bis 5 : 1 und deren anderer bei Spartein : Cardiazol etwa 1 : 1 liegt.

Der größeren Anschaulichkeit halber wurde auch ein plastisches Modell angefertigt, bei welchem die Prozentzahl der toten Tiere nach oben aufgetragen wurde, so daß man also aus der Ebene der überlebenden Tiere (Papierebene) zur Ebene der toten Tiere aufsteigt. Abb. 2 gibt eine Photographie des Modells wieder, bei welchem die Linie Dlm. hell gekennzeichnet ist. Der interessante Befund, daß schon ein Zusatz von 1 Teil Cardiazol zu 5 bis 10 Teilen Spartein eine wesentliche Entgiftung hervorruft, wurde

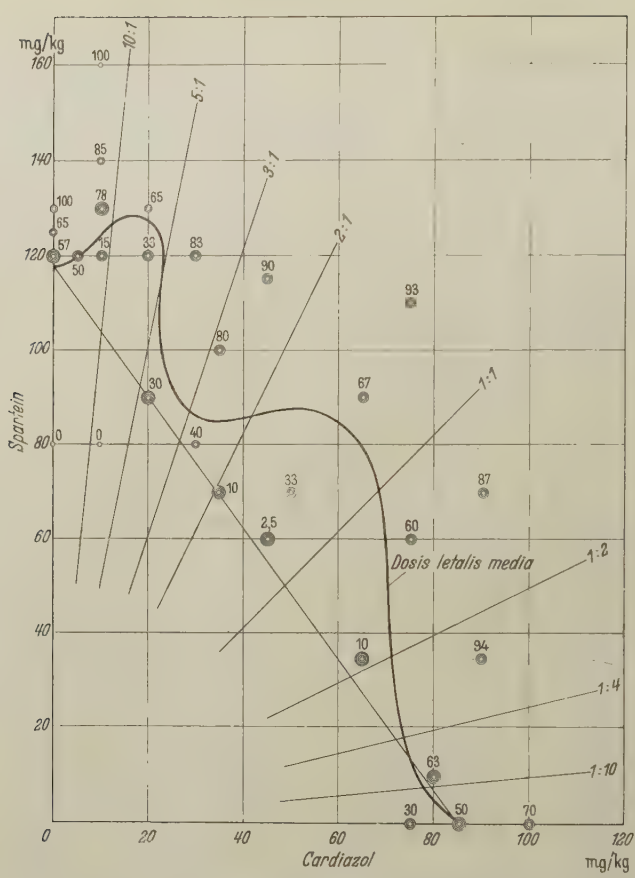


Abb. 1. Die Zahlen über den Ringen geben den Prozentsatz der getöteten Tiere an; je 1 Ring entspricht je 10 Tieren.

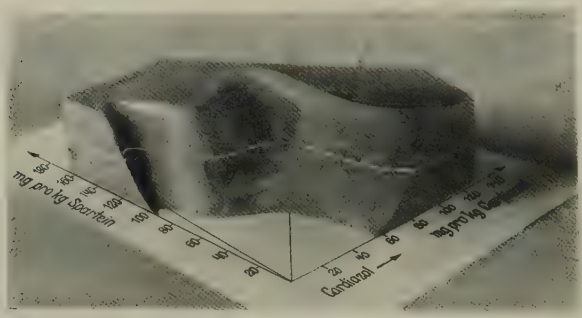


Abb. 2. Erklärung im Text.

einer späteren eingehenderen Untersuchung vorbehalten und zunächst die Mischung 1 : 1 weiter geprüft, da sie den üblichen therapeutischen Gaben der beiden Mittel nähersteht.

So wurden in verschiedenen Versuchen an urethanisierten Kaninchen der durch Spartein gesenkte Blutdruck sowie die Atmung durch gleichgroße Gaben von Cardiazol gebessert. Als Beispiel diene etwa Abb. 3, auf welcher man den Effekt von zweimal 10 mg pro kg Spartein sieht, der durch 20 mg pro kg Cardiazol aufgehoben wird. Eindrucksvoll ist die kräftige Anregung der Atmung, die an Amplitude zunimmt, obwohl gleichzeitig der durch Spartein gesenkte Blutdruck wieder ansteigt.

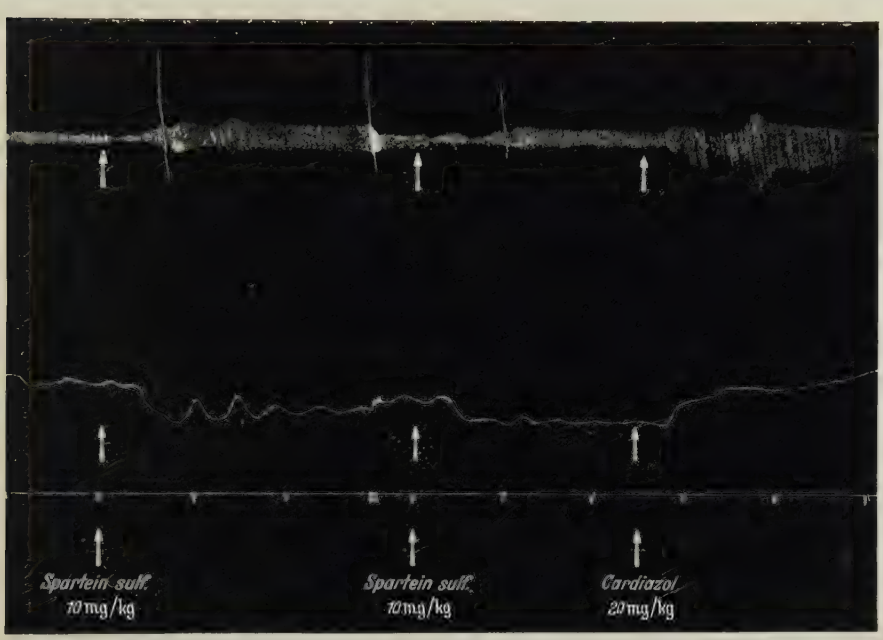


Abb. 3. Oben: Atmung; Mitte: mittlerer Blutdruck (gedämpftes Hg-Manometer); unten: 0-Linie, zugleich Zeitschreibung. ↑ 10 mg/kg Spartein + ↑ 10 mg/kg Spartein + ↑ 20 mg/kg Cardiazol.

Weiter wurde der Einfluß des Cardiazols auf die durch Spartein verengerten Coronargefäße geprüft. Mittels eines senkrecht schreibenden Ordinatenschreibers wurde der Durchfluß durch die Coronargefäße eines nach Langendorff isolierten Meerschweinchenherzens (welches durch eine starke Strophanthindosis stillgestellt war) aufgeschrieben. Während der durch einfache Pfeile |→ ←| angegebenen Zeitspanne war der Durchströmungsflüssigkeit Spartein sulf. in einer Konzentration von 1 : 10000 zugesetzt. Der Durchfluß geht sofort herab. Während der durch doppelte Pfeile |⟹ ⟸| gekennzeichneten Zeit war der Sparteinlösung noch außerdem Cardiazol in der gleichen Konzentration zugesetzt (1 : 10000). Der Durchfluß geht auf die alte Höhe hinauf, um nach Absetzen des Cardiazols unter Spartein allein sofort wieder abzusinken. Daß auch nach Abschluß der Sparteindurchströmung die Coronargefäße noch reaktionsfähig sind, beweist die dann sofort wieder einsetzende Erweiterung.

Somit sind an Coronargefäßen, Blutdruck und Atmung günstige antagonistische Effekte des Cardiazols gegenüber dem Spartein erwiesen. Es fragt sich nun aber sehr, ob sich dieser Antagonismus vielleicht nicht auch auf andere Wirkungen des Sparteins, z. B. die therapeutisch gerade erwünschten, erstreckt, wodurch die gleichzeitige Anwendung beider Mittel natürlich wertlos würde. — Wie schon eingangs dargelegt, dürfte nach Ansicht einiger neuerer Autoren (5—8) die therapeutisch wertvolle Wirkung des Sparteins darin liegen, daß es das Herz der Einwirkung von Accelerans und Vagus entzieht und im Eigenrhythmus schlagen läßt.

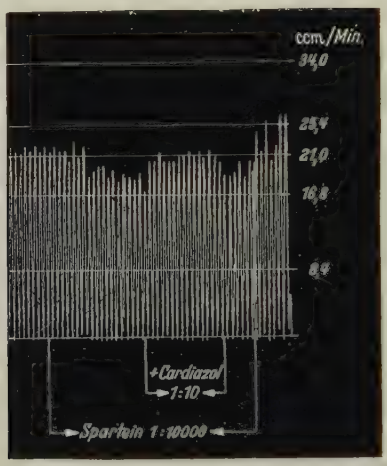


Abb. 4. Erklärung im Text.

Wenn therapeutisch dabei auch wohl die nervös bedingte überhohe Herzfrequenz im Vordergrunde stehen dürfte, wurde zur Klärung dieser Frage doch aus Gründen der Einfachheit der „klassische" Vagusreizversuch herangezogen, wie ihn schon Joh. Fick (11), der erste Pharmakologe, der sich eingehender mit dem Spartein befaßte, im Laboratorium des Altmeisters Schmiedeberg durchführte.

Wie aus Abb. 5 hervorgeht, sieht man bei einer gewissen Reizstärke eine Vagushemmung des Herzschlages. Nach Injektion von 5 mg Sparteinsulfat (pro Tier!) in den Schenkellymphsack geht nach kurzer Zeit trotz Reizung der Herzschlag unbeeinflußt weiter. Eine nun erfolgende Injektion der gleichen Gabe Cardiazol vermag die Vaguswirkung nicht wiederherzustellen. Dieser Befund an sich ist natürlich noch recht unbefriedigend; es könnte die Wirkungslosigkeit der Vagusreizung ja z. B. durch Schädigung des Nerven bei der Reizung oder durch Austrocknen od. dgl. zu erklären sein; das ist jedoch auszuschließen, da nach einigen Stunden der Reizeffekt wieder zu beobachten ist.

Abb. 5. Oben: Zeit; Mitte: Reizmarkierung und Markierung der Injektion in den Schenkellymphsack; unten: Suspensionskurve des Temporarienherzens.

Wenn die im vorstehenden angeführten Versuche in ihrer Bedeutung und Übertragbarkeit auf die klinischen Verhältnisse auch nicht überbewertet werden sollen, dürfen sie doch als ein erster positiver Hinweis auf die Möglichkeit und Nützlichkeit einer gleichzeitigen Verabreichung von Spartein und Cardiazol im Verhältnis 1 : 1 gelten. Weitere Versuche werden diesen Befund ausbauen und stützen. Bis jetzt ergibt sich folgende

Zusammenfassung.

1. Spartein und Cardiazol entgiften sich gegenseitig im Verhältnis 1 : 1 wie auch im Verhältnis 10 : 1.

2. Cardiazol ist ein Antagonist des Sparteins hinsichtlich der kranzgefäßverengenden sowie der atmungs- und blutdrucksenkenden Wirkung desselben.

3. Cardiazol hebt nicht die therapeutisch von mancher Seite gewünschte Unterbrechung der Leitung in den Ganglienzellen auf.

Literatur.

1) Sée, G.: C. r. 1885, Nr. 25, S. 1046. — 2) Hildebrandt, Fritz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **101**, 136 (1924). — 3) Bohnenkamp, H., u. Fr. Hildebrandt: Ebenda **102**, 244 (1924). — 4) Kreitmair u. Sieckmann: Ann. de Merck **50**, 382 (1926). — 5) Heathcote: J. Pharmacol. (Am.) **27**, 431 (1926). — 6) Crawford: Ebenda **26**, 171, 181 (1925). — 7) Mercier: C. r. Soc. Biol. **93**, 1468 (1925). — 8) Mercier u. Cherbouliez: Ebenda **94**, 730 (1926). — 9) Romm u. Krister: Z. exper. Med. **78**, 567 (1931). — 10) Laborde u. Légris: Arch. Physiol. norm. et path. 1886. — 11) Fick, Joh.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **1**, 397 (1873).

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Über den Ca- und K-Gehalt der cholinergischen und adrenergischen Nervenelemente.

Von

B. Rex-Kiss und **K. Lissák.**

(Eingegangen am 20. Dezember 1940.)

Es wurde von mehreren Autoren, wie auch in unseren früheren Mitteilungen (1, 2, 3) festgestellt, daß der Azetylcholingehalt der verschiedenen cholinergischen Elemente — d. h. der somatisch-motorischen und sensorischen Nerven, sowie parasympathischen und präganglionär sympathischen Nerven und Ganglien — ganz verschieden ist. Es ging außerdem aus diesen Versuchen (1, 2) hervor, daß die nur postganglionäre sympathische Fasern enthaltenden adrenergischen Nerven und präganglionär denervierten sympathischen Ganglien nur Adrenalin, nicht aber Azetylcholin in nachweisbarer Menge enthalten, weiter (4), daß zwischen cholinergischen Nerven und K-Ionen bzw. adrenergischen Nerven und Ca-Ionen ein enger Zusammenhang besteht. Es schien daher von Interesse zu sein, den K- und Ca-Gehalt der cholinergischen und adrenergischen Nerven eingehender zu untersuchen.

Über den Ca- und K-Gehalt des Zentralnervensystems sind viele Angaben vorhanden, bezüglich der peripheren Nerven sind aber solche Untersuchungen nur sehr spärlich. Diese letzteren beziehen sich hauptsächlich auf gemischte Nerven (Ischiadicus), wogegen die Bestimmungen an rein adrenergischen Nerven so gut wie vollständig fehlen. Bezüglich des Ca- und K-Gehalts des N. ischiadicus und N. vagus von Hunden sind von Kraus, Wollheim und Zondek (5) die folgenden Daten angegeben:

N. ischiadicus, Ca: 0,147—0,264%; K: 0,101—0,681%.
N. vagus, Ca: 0,085—0,270%; K: 0,118—0,952%.

Simon und Szelöczey (6) haben an einem umfangreichen Versuchsmaterial den Ca- und K-Gehalt des N. ischiadicus von Kaninchen bestimmt.

Die von ihnen mitgeteilten Ergebnisse weisen darauf hin, daß die untersuchten Ca- und K-Werte nicht nur große individuelle Schwankungen zeigen, sondern, daß auch bei demselben Versuchstier zwischen dem Iongehalt des links- und rechtsseitigen N. ischiadicus bedeutende Abweichungen bestehen können. Die Ca-Werte sind in diesen Untersuchungen in 0,130 bis 1,920%, die K-Werte 0,300—2,130% angegeben. Über den Ca- und K-Gehalt des Frosch-Ischiadicus berichten Tripton (7), sowie Méhes, Vályi-Nagy und Sokoray (8); letztere Autoren haben für das Ca einen Mittelwert von 24,5 mg% gefunden. Leulier, Pommé und Bernard (9) untersuchten den K-Gehalt des Zentralnervensystems und der peripheren Nerven vom Mensch und Kaninchen. Es geht aus diesen Untersuchungen hervor, daß das Zentralnervensystem bedeutend mehr K enthält als die peripheren Nerven. Vogt (10) hat den K-Gehalt des Ganglion cerv. sup. vom Hund bestimmt und erhielt den Wert von 175,0—242,0 mg%.

In unseren eigenen Untersuchungen wurde der Ca- und K-Gehalt des N. ischiadicus, N. vagus, Halssympathicus, N. phrenicus, N. saphenus, N. opticus, Plexus mes. sup. und Ganglion cerv. sup. von Katze, Hund und Kaninchen bestimmt.

Methodik.

Zu der Untersuchung von rein adrenergischen postganglionären sympathischen Nerven wurden an den Versuchstieren einige präliminäre Operationen in Äthernarkose durchgeführt. Es ist nämlich hervorzuheben, daß das präganglionär denervierte Ganglion cerv. sup. 10 Tage nach der Operation nur postganglionäre Nervenelemente enthält, weiter, daß das Plexus mes. sup. 14 Tage nach Durchschneiden der Vagusfasern unter dem Diaphragma nur aus postganglionären, adrenergischen Fasern besteht.

Die Tiere waren mit einem auf den Kopf gerichteten Schlag getötet, die Nerven sofort herausgeschnitten, auf Torsionswaage abgewogen, nach dem Verfahren von Simon und Szelöczey (6) im Platintiegel verascht und die Asche in kochendem destilliertem Wasser gelöst. Die Ca- und K-Bestimmungen waren nach Kramer und Tisdal, die Ca-Bestimmungen außerdem auch durch die Methode von Méhes (9) durchgeführt. Letztere besteht in einer Zerstörung der Nerven mit rauchender Salpetersäure und 30%igem Wasserstoffsuperoxyd. Diese Methode bewährte sich recht gut bei der Bestimmung des Ca-Gehalts der Nerven.

Versuchsergebnisse.

Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 1, 2, 3 wiedergegeben, die Tabelle 4 enthält die Mittelwerte von den Bestimmungen. Es geht aus

der Tabelle 4 hervor, daß die von uns für den Vagus und N. ischiadicus vom Hund, sowie für den N. ischiadicus vom Kaninchen gefundenen Ca-Werte niedriger sind als die von Kraus, Wollheim und Zondek (5) sowie die von Vogt (10) mitgeteilten. Die Feststellung von Kraus und Mitarbeitern, daß der Vagus vom Hund mehr K enthält als der N. ischiadicus, wird durch unsere Versuchsergebnisse vollkommen bestätigt. Der K-Gehalt des Ganglion cerv. sup. vom Hund schwankt nach Vogt zwischen 175,0 bis 242,0, nach unseren eigenen Untersuchungen zwischen 172,0—201,4 mg%. Aus der Tabelle 2 ist auch ersichtlich, daß zwischen den Ca- und K-Gehalt der rein cholinergische und adrenergische Fasern enthaltenden Nerven kein wesentlicher Unterschied besteht. Man muß aber in Betracht nehmen, daß die adrenergischen Nerven — als postganglionäre Fasern — marklose sind und der Durchmesser der Fasern selbst bedeutend kleiner ist als der der untersuchten cholinergischen markhaltigen Fasern. Wenn man also die Ca- und K-Werte auf das Gewicht der ausgeschnittenen Nerven berechnet, so erhält man nur annähernd die dem Axon entsprechenden Werte.

Es geht weiter aus den bisherigen Untersuchungen hervor, daß der Ca-Gehalt von rein sensorischen Nerven (N. opticus, N. saphenus) beim Kaninchen höher ist, als der vom motorischen Nerven (N. phrenicus). Der Ca-Gehalt des hauptsächlich aus präganglionären cholinergischen Fasern bestehenden Halssympathicus, sowie des dazugehörigen Ganglions ist bei den untersuchten drei Tierarten bedeutend höher als der des eben-

Tabelle 1. Ca- und K-Gehalt der Nerven von Katzen.

	Nerv	Gewicht mg	Calcium mg%	Kalium mg%
1.	N. ischiadicus	542,0	13,6	240,0
		460,0	18,0	260,0
		495,0	16,4	240,0
		335,0	15,4	269,0
		370,0	20,1	294,0
		475,0	20,3	270,0
		500,0	15,2	242,0
		382,0	17,5	256,0
		323,0	19,0	274,3
		230,0	23,8	247,0
		90,0	21,3	271,0
		140,0	28,4	255,0
2.	N. vagus	81,0	35,6	170,6
		188,0	45,1	358,0
		120,0	49,4	264,0
		115,0	19,3	271,2
		138,0	20,4	233,0
		123,0	28,5	256,4

Tabelle 1 (Fortsetzung).

	Nerv	Gewicht mg	Calcium mg%	Kalium mg%
3.	Halssympathicus	114,0	98,0	295,0
		101,0	41,4	380,0
		59,0	52,0	310,0
		49,0	28,0	296,2
		86,0	42,6	308,4
		102,0	56,0	319,0
4.	N. phrenicus	82,0	31,7	285,5
		90,0	36,6	283,6
		104,0	34,9	260,0
		126,0	36,0	285,5
		143,0	21,3	234,2
		52,0	20,6	172,0
5.	N. saphenus	95,0	33,7	244,6
		72,0	35,2	230,5
		118,0	22,0	243,0
		130,0	35,0	362,0
		60,0	19,0	233,0
		142,0	18,3	201,0
6.	N. opticus	102,0	52,4	279,0
		125,0	31,7	322,0
		128,0	20,0	247,0
		150,0	33,0	280,0
		82,0	18,0	262,0
		75,0	82,0	258,6
		235,0	20,1	210,0
7.	Plex. mes. sup.	86,0	25,1	220,0
		146,0	31,2	170,0
		110,0	28,3	210,0
		96,0	34,9	176,0
		187,0	18,0	174,6
		100,0	25,8	170,4
		124,0	27,6	182,0
8.	Ganglion cerv. sup.	86,0	43,0	294,0
		33,0	65,4	267,0
		67,0	52,7	277,0
		106,0	27,0	266,0

falls cholinergischen Halsvagus oder der gemischten Nerven (N. ischiadicus). Dieselben Abweichungen konnten wir beim Hund auch bezüglich des K beobachten. Bei den untersuchten drei Tierarten ist der Ca-Gehalt des N. ischiadicus am niedrigsten, während der Halssympathicus und das Ganglion cerv. sup. in größter Menge Ca enthält. Der Plexus mes. sup. von Katzen enthält im Vergleich zu den von anderen Tierarten auffallend wenig K.

Tabelle 2. Ca- und K-Gehalt der Nerven von Hunden.

	Nerv	Gewicht mg	Calcium mg%	Kalium mg%
1.	N. ischiadicus	525,0	17,6	111,5
		440,0	16,0	142,0
		245,0	20,4	166,9
		310,0	19,8	127,7
		150,0	16,3	166,8
		182,0	22,4	148,2
2.	N. vagus	265,0	15,6	160,0
		120,0	31,7	197,5
		180,0	25,0	225,7
		120,0	31,6	216,7
		142,0	28,3	208,4
3.	Halssympathicus	95,0	56,0	148,8
		60,0	40,0	168,2
		92,0	29,8	133,2
		112,0	38,6	170,6
		121,0	48,2	156,3
4.	N. phrenicus	166,0	21,1	96,0
		84,0	36,9	143,0
		130,0	23,1	76,0
		145,0	25,6	166,8
		128,0	22,4	162,8
5.	N. saphenus	195,0	16,5	93,3
		133,0	28,5	84,1
		135,0	25,2	113,3
		152,0	21,6	109,2
		126,0	27,5	118,4
6.	N. opticus	190,0	13,7	255,0
		166,0	20,5	274,1
		170,0	21,7	245,0
		154,0	23,5	272,6
		178,0	19,3	230,8
7.	Plex. mes. sup.	180,0	21,2	168,0
		193,0	19,1	144,1
		240,0	20,6	152,0
		158,0	22,4	170,4
		122,0	26,3	166,3
8.	Ganglion cerv. sup.	115,0	30,3	180,0
		90,0	15,2	172,0
		70,0	25,6	175,8
		82,0	30,0	201,4
		98,0	28,4	186,2
9.	Plex. mes. sup. (Vagusfasern durchgeschnitten)	143,0	20,3	152,5
10.	Praegangl. denerviert cerv. sup. ganglion	120,0	21,8	175,6

Tabelle 3.

Ca- und K-Gehalt der Nerven von Kaninchen.

	Nerv	Gewicht mg	Calcium mg%	Kalium mg%
1.	N. ischiadicus	130,0	25,0	275,8
		304,0	17,8	281,0
		315,0	20,8	411,0
		280,0	21,4	318,0
		136,0	21,6	374,0
		75,0	18,5	356,0
		100,0	23,2	272,7
		132,0	27,0	326,8
		120,0	19,8	292,6
		98,0	22,9	274,8
2.	N. vagus	123,0	30,6	148,4
		89,0	33,3	162,0
		107,0	29,9	154,9
		94,0	35,1	144,1
		138,0	28,3	169,5
3.	Halssympathicus	96,0	40,2	182,3
		74,0	30,4	120,0
		79,0	36,8	163,0
		88,0	39,2	174,2
		104,0	28,3	185,0
4.	N. phrenicus	84,0	28,4	140,8
		74,0	27,8	150,1
		115,0	25,3	94,3
		110,0	35,7	118,2
		104,0	33,6	145,4
5.	N. saphenus	113,0	38,9	210,4
		78,0	38,2	205,6
		89,0	21,2	160,6
		86,0	36,3	182,3
		109,0	32,4	190,4
6.	N. opticus	85,0	32,2	215,6
		73,0	36,0	218,0
		100,0	46,6	190,0
		132,0	22,5	229,3
		142,0	30,8	205,0
7.	Plex. mes. sup.	85,0	23,2	203,4
		108,0	28,5	195,0
		93,0	35,3	180,5
		91,0	26,6	175,8
		86,0	22,2	198,6
8.	Ganglion cerv. sup.	55,0	32,3	180,4
		105,0	36,3	138,6
		63,0	38,9	142,0
		77,0	30,4	135,6
		66,0	28,6	179,8

Tabelle 4.

	Nerv		Katze	Hund	Kaninchen
1.	N. ischiadicus	Ca	19,1	18,8	21,8
		K	259,8	143,8	318,3
2.	N. vagus	Ca	33,1	26,4	31,4
		K	258,8	201,6	155,8
3.	Halssympathicus	Ca	53,0	42,5	35,0
		K	318,1	155,4	164,9
4.	N. phrenicus	Ca	30,2	25,8	30,2
		K	253,6	128,9	129,8
5.	N. saphenus	Ca	27,2	23,9	33,4
		K	252,4	103,7	189,9
6.	N. opticus	Ca	36,7	19,7	33,6
		K	265,5	255,5	211,6
7.	Plex. mes. sup.	Ca	27,7	21,9	27,2
		K	186,1	160,2	190,7
8.	Gangl. cerv. sup.	Ca	47,0	25,9	33,3
		K	276,0	183,1	155,3
9.	Plex. mes. sup. (Vagusfasern durchgeschnitten)	Ca	—	20,3	—
		K	—	152,5	—
10.	Gangl. cerv. sup. praegangl. denerv.	Ca	—	21,8	—
		K	—	175,6	—

Zusammenfassung.

Im Ca- und K-Gehalt der verschiedenen Nerven (N. ischiadicus, N. vagus, Halssympathicus, N. phrenicus, N. saphenus, N. opticus, Plexus mes. sup., Ganglion cerv. sup., Plexus mes. sup. mit degenerierten Vagusfasern, sowie präganglionär denerviertes Ganglion cerv. sup, mit den postganglionären Elementen) von Hund, Katze und Kaninchen konnte zwischen den cholinergischen und adrenergischen Nerven kein wesentlicher Unterschied beobachtet werden.

Der Ca-Gehalt von rein sensiblen Nerven (N. opticus, N. saphenus) war bei Kaninchen höher als der von motorischen Nerven (N. phrenicus). Der Ca-Gehalt des hauptsächlich aus präganglionären Fasern bestehenden Halssympathicus, sowie der des dazu gehörigen Ganglions war bei sämtlichen untersuchten Tierarten bedeutend höher als der Ca-Gehalt des ebenfalls cholinergischen Halsteiles des N. vagus oder der gemischten Nerven (N. ischiadicus). Beim Hund konnte dasselbe auch bezüglich des K-Gehalts festgestellt werden.

Literatur.

1) Lissák, K.: Science **87**, 371 (1938). — 2) Lissák, K.: Amer. J. Physiol. **125**, 778 (1939). — 3) Lissák, K., u. J. Pásztor: Pflügers Arch. **241**, 120 (1940). — 4) Lissák, K.: Amer. J. Physiol. **123**, 256 (1938). — 5) Kraus, F., Wollheim, E., u. S. G. Zondek: Klin. Wschr. **17**, 735 (1924). — 6) Simon, A., u. J. Szelöczey: Biochem. Z. **193**, 393 (1928). — 7) Tripton, S. R.: Amer. J. Physiol. **109**, 457 (1934). — 8) Méhes, Gy., Vályi-Nagy, T., u. L. Sokoray: Arbeiten des Ungarischen Biologischen Forschungs-Institutes **8**, 318 (1936). — 9) Leulier, A., Pommé, B., u. A. Bernard: C. r. Soc. Biol. Paris **119**, 1228 (1935). — 10) Vogt, M.: J. Physiol. (Brit.) **86**, 258 (1936).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck.

Die Bedeutung des Vagus für die Wirkung der Mistel und des Veratrins.

(Die Spezifität des Bezold-Effektes.)

Von

A. Jarisch.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingegangen am 30. Dezember 1940.)

Gegen unsere Angabe, die Blutdrucksenkung nach Injektion des herzwirksamen Stoffes der Mistel[1] oder von Veratrin[2] beruhe auf einem im Vagus geleiteten Reflex, kann eingewendet werden das Wiederansteigen des Blutdruckes nach der Vagusausschaltung sei eine ganz allgemein, bei niedrigem Blutdruck auftretende Erscheinung[3]. Da die Spezifität der von uns beschriebenen und als „Bezold-Effekt" bezeichneten Erscheinungen in der Tat noch nicht erörtert wurde, sei folgendes mitgeteilt.

Über den Einfluß der Vagotomie auf den Blutdruck ist bekannt: wenn man von den Folgen des sensiblen Reizes bei der Durchschneidung absieht, besteht nach Pawlow[4] im Anschluß an die Vagusausschaltung bei hohem Blutdruck eine Neigung zu weiterem Ansteigen und bei niedrigem eine zum Abfallen. Mc Dowall[5] erweiterte diese Angabe für den erniedrigten Druck nach Blutverlusten, Alkohol, Histamin und Abklemmung der V. cava inferior; er nahm einen „Vagopressorreflex" an, der durch die verminderte Füllung der Hohlvenen und Aurikeln ausgelöst wird und dem völligen Zusammenbrechen des Kreislaufes entgegenwirken soll. Reed[6], Reed und Layman[7] überprüften diese Angaben und konnten sie zum Teil bestätigen; wir erwähnten ebenfalls, daß bei geschädigtem Kreislauf unter nicht näher zu bestimmenden Umständen die Kälteblockierung des Vagus für die Dauer der Ausschaltung eine Drucksenkung bewirken kann[2]. Comroe[8] erklärte jüngst die Erscheinung damit, daß bei geschädigtem Kreislauf die Chemorezeptoren an der Aorta asphyktisch gereizt würden und den Blutdruck hochhalten; da ihre Nerven im Vagus verlaufen, muß der Druck weiter fallen, wenn man den Vagus unterbricht.

Somit hat das Verhalten des Blutdruckes nach der Vagusausschaltung bei niedrigem Blutdruck schon eingehende Beachtung gefunden; erörtert wird jedoch nur ein weiterer Abfall des bereits gesunkenen Druckes und kein Ansteigen. Wir können dazu mitteilen, daß die Vagusblockierung

[1] Jarisch, A., u. C. Henze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 706 (1937); **191**, 30 (1938); A. Jarisch u. H. Richter: Ebenda **195**, 89 (1940). — [2] Jarisch, A., u. H. Richter: Ebenda **193**, 347, 355 (1939); Klin. Wschr. **1939**, S. 185. — [3] Enders, A., O. Feuchtinger u. S. Janssen: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 290 (1940); A. Enders: Ebenda **196**, 328 (1940); O. Feuchtinger: Ebenda **196**, 431 (1940). — [4] Pawlow, I. P.: Pflügers Arch. **20**, 210 (1879). — [5] McDowall, R. J. S.: J. Physiol. (Brit.) **59**, 41, 36 P (1924); J. Pharmacol. (Amer.) **25**, 289 (1925); J. Physiol. (Brit.) **81**, 5 P (1934). — [6] Reed, C. I.: Amer. J. Physiol. **74**, 61 (1925). — [7] Reed, C. I., u. J. A. Layman: Ebenda **92**, 275 (1930). — [8] Comroe, J. H.: Amer. J. Physiol. **127**, 176 (1939).

den Blutdruck nie steigert, wenn er einmal durch allgemeine Schädigung des Kreislaufes gefallen ist. Bei der Beschäftigung mit dem „Bezold-effekt" haben wir im Laufe der letzten sechs Jahre den Vagus viele hundert Male durch Kälte reizlos aus- und wieder eingeschaltet — es ist uns dies schon zur Gewohnheit geworden —, und zwar vom Anfang der Versuche an bis zum Versagen des Kreislaufes. Im besonderen wurden noch Nitrite, Arsen, Formaldehyd, Saponine, Clupein und anderes zum mindesten in orientierenden Versuchen und an der Katze geprüft, doch sahen wir nie Erscheinungen, die denen nach Veratrin oder Mistel entsprachen.

Abb. 1. Versuch vom 11. Dezember 1940. Katze 1400 g, in Chloralosenarkose. I Ausgangsdruck, II 3 Minuten später und nach Einschaltung einer Dauerinfusion von 25 γ/Min. Acetylcholin; bei K Kühlung und bei W Wärmung beider Halsvagi.

Um noch die Angabe von Feuchtinger[3] über den Erfolg der Vagusausschaltung bei der Blutdrucksenkung durch Azetylcholin zu überprüfen, machten wir folgenden Versuch: Katzen in Chloralosenarkose, Dauerinfusion von Azetylcholin und reizlose Kälteblockierung des Vagus. Von zwei übereinstimmenden Versuchen zeigt Abb. 1 einen Ausschnitt mit 4 Kühlungen. Jedesmal fällt der Druck bei der Ausschaltung des Vagus weiter ab, um bei der Einschaltung wieder anzusteigen. Dies sieht wie der Wegfall eines „Vagopressorreflexes" aus, doch ist auch die Veränderung der Atmung zu berücksichtigen!

Wenn man ferner den Einfluß der Vagusblockierung auf die Wirkung der Mistel oder des Veratrins während einer Dauerinfusion von Adrenalin prüft, erhält man die gleichen Ergebnisse; die Kurve erscheint einfach versetzt und absolut niedrige Drucke treten gar nicht ein.

Danach kann der Wiederanstieg des nach Mistel oder Veratrin gefallenen Blutdruckes bei der Vagusblockierung nicht als unspezifische Ausschaltungsfolge bei niedrigem Druck abgetan werden. Überdies gründen sich unsere die Reflexnatur der beobachteten Erscheinungen betreffenden Schlußfolgerungen nicht allein auf die Folgen der Ausschaltung des Vagus bei niedrigem Druck, sondern in gleicher Weise auf die seiner Einschaltung bei hohem Druck. Das Veratrin ist gar kein blutdrucksenkender Stoff schlechthin, wie Feuchtinger und Enders zur Begründung ihrer

Einwände annehmen, denn am vagotomierten Tier steigert es sogar den Druck (V. Bezold und Hirt[9]), und wenn man es bei gekühltem Vagus einspritzt, fällt der Druck erst, sobald man den Vagus erwärmt[2]; derartiges wurde sonst noch bei keinem Stoff beschrieben. Auch bei der Wirkung des Herzstoffes der Mistel läßt sich die Drucksenkung eindeutig als Einschaltungsfolge darstellen, wie die Abb. 2 zeigt.

In diesem Versuch wurde zunächst der nach Winterfeld[10] dargestellte herzwirksame Stoff der Mistel in Mengen von 0,1 mg und in Abständen von $^1/_2$ Minute injiziert, bis die Drucksenkung in Gang kam, was bei einer Gesamtmenge von 1 mg der Fall war. Dann wurde bei K_1 gekühlt und nachdem sich der Druck wieder auf den Ausgangswert ein-

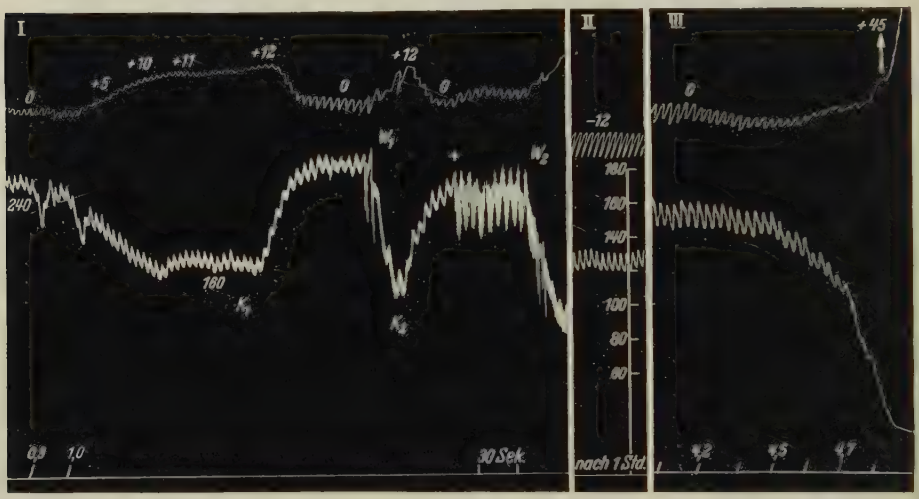


Abb. 2. Versuch vom 16. Dezember 1940. Katze 3500 g, in Chloralosenarkose. Oben Druck in der V. cava sup. (Wassermanometer mit Millimetereinteilung und Luftübertragung zu einem Schlayer-Piston; die Ziffern sind die am Manometer selbst abgelesenen Abweichungen vom Ausgangswerte in mm H_2O.) Unten Blutdruck aus der Carotis mit Pulsfrequenzen. An der Grundlinie die Gesamtmenge des bereits injizierten Mistelstoffes in mg. Erklärung im Text.

gestellt hatte, wurde zwischen W_1 und K_2 für 20 Sekunden warmes Wasser durch die Thermode geleitet. Diese kurze Wiedereinschaltung des Vagus hat nun einen kurzdauernden Drucksturz um 85 mm zur Folge. Bei + beginnt eine Rhythmusstörung, die, wie wir aus früheren elektrokardiographischen Versuchen wissen, höchstwahrscheinlich durch eine extrasystolische Bigeminie bedingt ist*. Bei W_2 erzeugte eine neuerliche Einschaltung des Vagus bei fortdauernder Rhythmusstörung eine neuerliche Drucksenkung. — Der Venendruck steigt, sooft der Carotisdruck sinkt,

[9] Bezold, A. v., u. L. Hirt: Unters. a. d. physiol. Laboratorium in Würzburg **1**, 95 (1867); auch H. Richter u. H. Thoma: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 622 (1939). — [10] Winterfeld, K.: Sci. pharm. (Wien. pharm. Wschr.) **1938**, S. 105.

* Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 702, Kurve 6b (1937).

infolge der vagalen Herzhemmung* jedoch nur um 12 mm H_2O**, und fällt nach der Vagusausschaltung sofort wieder auf den Ausgangswert ab. Besonders hingewiesen sei auf die an den Atmungsschwankungen des Venendruckes sichtbare Verlangsamung der Atmung für die Dauer der Einschaltung des Reflexes nach W_1, weil sie der bekannten Atmungshemmung bei der Erregung depressorischer Nerven entspricht. — Die Rhythmusstörung hat in diesem Versuch auf den Venendruck keinen Einfluß, beeinträchtigt somit die Förderleistung des Herzens nicht.

Die Abb. 2 bringt dann noch Ausschnitte aus dem weiteren Verlauf des Versuches. Im Anschluß an I wurden die Vagi durchschnitten und dann wurde 1 Stunde gewartet; in dieser Zeit fiel der arterielle Druck etwas ab (II), doch fiel zugleich auch der Venendruck, woraus sich ergibt, daß nicht eine Herzschwäche daran schuld war. Nun wurden die Injektionen des herzwirksamen Stoffes wieder aufgenommen, was beide Drucke bis zum Beginn des Abschnittes III etwas erhöhte (daß die Mistel auch drucksteigernd wirken kann, ist bekannt). Nachdem im ganzen 4,5 mg injiziert worden waren, erfolgte ein dramatisches Finale. Bei der Öffnung des Thorax stand der linke Ventrikel in Kontraktur und der linke Vorhof war leer, das rechte Herz war jedoch maximal überdehnt (Pulmonalsperre).

In diesem Versuch trat somit nach der Injektion von knapp $^1/_4$ der tödlichen Dosis ein Zustand ein, bei dem der Blutdruck niedrig war, solange der Vagus leitete, und hoch, solange er nicht leitete; dabei war es für das Verhalten des Druckes gleichgültig, ob der Vagus aus- oder eingeschaltet wurde. Die Herzleistung war nach Ausweis des Venendruckes bei eingeschaltetem Vagus etwas vermindert, bei ausgeschaltetem jedoch unverändert und blieb es auch weiterhin; erst nach der Injektion von weiteren $^3/_4$ der tödlichen Dosis, nachdem 1 Stunde zugewartet worden war, folgte das Ende. Daher kann der Drucksturz in der ersten Phase bei eingeschaltetem Vagus nicht die Folge einer toxisch bedingten Herabsetzung der Herzleistung gewesen sein, sondern muß in spezifischer Weise mit der Funktion des Vagus zusammenhängen.

Den beschriebenen Verlauf nimmt die Mistelwirkung bei der Katze in der Regel. Es kommen aber auch Abweichungen vor, in denen das toxische Ende früher oder auch später eintritt: so kann die zum Reflexstadium führende Dosis in ganz seltenen Fällen auch schon töten, und dann ist der Versuch verloren, oder es tötet erst bis zum Achtfachen davon. Das Ende braucht auch nicht so blitzartig wie in Abb. 2 einzutreten, sondern kann sich unter langsamem Abfallen des arteriellen Druckes und gegenläufigem Ansteigen des Venendruckes über längere Zeit hinziehen. Bleibt der Vagus intakt, dann geht das Stadium der reflektorischen Drucksenkung bei fortgesetzter Mistelzufuhr unmittelbar über in das Stadium des niedrigen Blutdruckes durch die Schädigung der Herzkraft; in diesem Falle tritt das Ende meist

---

* Daß diese Herzhemmung nicht die Ursache des Drucksturzes ist, ergibt sich aus den Atropinversuchen[2]. Vgl. Arch. Kreisl.forsch. **7**, 258 (1940).

** Das von Enders und Feuchtinger zur Messung des Venendruckes benutzte Membranmanometer ergab viel zu hohe Werte: der Venendruck steigt im Tode um 5—10 cm H_2O und nicht um 20—30 cm, und die Atemschwankungen betragen mehrere Millimeter und nicht mehrere Zentimeter.

früher ein, weil der nachinjizierte Mistelstoff infolge des verlangsamten Blutumlaufes in höherer Konzentration zur Wirkung kommt.

Beim Kaninchen ist der Verlauf grundsätzlich gleich, doch ist das Reflexstadium entsprechend der Eigenart dieser Tiere weniger ausgesprochen. Darum führten wir die Analyse der Erscheinungen an der Katze durch.

Die neuen Veröffentlichungen von Janssen und seinen Mitarbeitern bringen in die so verworrene Mistelfrage folgende Klärung: Vor zwei Jahren kündigte die Freiburger Arbeitsgemeinschaft [11] als stark blutdrucksenkenden Wirkstoff der Mistel eine neue Substanz an, die mit Cholesterin bzw. Digitonin als Molekülverbindung abgeschieden werden kann, mit Mayers Reagens eine starke Fällung gibt, einen hämolytischen Index von 1 : 800 besitzt und nach der Hydrolyse mit verdünnter Säure Fehlingsche Lösung reduziert. Wir haben uns bereits gegen das Vorkommen eines derartigen blutdrucksenkenden Stoffes ausgesprochen [1], und da er in den neuesten Freiburger Arbeiten [3] nicht mehr erwähnt wird, ist er wohl auch unwirksam. — Es finden sich in der Mistel also folgende Wirkstoffe: ausschließlich blutdrucksenkende vom Typus des Cholins und seiner Ester und der Herzstoff, der erstmalig von Winterfeld und Dörle in hochwirksamer Form gewonnen wurde; von diesem wurde hier der Nachweis erbracht, daß er in einer sonst bisher nur beim Veratrin bekannten Weise den Blutdruck senkt, solange der Vagus intakt ist.

Schlußfolgerung.

Da nur beim Veratrin und dem herzwirksamen Stoff der Mistel eine hämodynamisch wohl definierte depressorische Reaktion des gesamten Kreislaufes eintritt, die in gesetzmäßiger Weise mit der Leitfähigkeit des Vagus, selbst in raschester Folge, ein- und wieder ausgeschaltet werden kann, muß dem Bezold-Effekt eine Einrichtung mit spezifischer Empfindlichkeit zugrunde liegen; Aufgabe der Zukunft ist es, weitere Detektorsubstanzen für diese Einrichtung zu suchen.

Zusammenfassung.

Wenn der Blutdruck niedrig ist, sei es infolge einer unspezifischen Schädigung des Kreislaufes oder unter der Einwirkung von Azetylcholin, Nitriten, Arsen usw., steigert die Unterbrechung des Vagus durch Kälteblockierung den Blutdruck bei der Katze nicht, sondern senkt ihn sogar häufig noch weiter. Somit ist eine Erniedrigung des Blutdruckes schlechthin keine Bedingung für das Wiederansteigen des Druckes nach der Vagusblockierung, wie es für die Mistel und das Veratrin typisch ist.

Der Bezold-Effekt ist spezifisch.

Die Wirkung des Herzstoffes der Mistel hat zwei Phasen, eine erste, in der sie eine Blutdrucksenkung mit Bradykardie auslöst, solange der Vagus intakt ist, und eine zweite toxische, die zum Tode führt. Die Rolle des Vagus läßt sich ebenso durch seine Einschaltung wie durch seine Ausschaltung erweisen.

[11] Janssen, S., u. K. Winterfeld: Verfahren zum Anreichern und Trennen der Wirkstoffe der Mistel, Aktenzeichen I, 61 467, Patentabteilung V a, Klasse 30 h vom 12. 1. 1939. — Winterfeld, K.[10] — Dörle, E. E.: Dissertation Freiburg 1938.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität, Pécs.

Die Wirkung des D-Vitaminmangels und der oestrogenen Stoffe auf den Ca- und P-Gehalt der Knochen.

Von

Priv.-Doz. **Josef Sós, Georg Lichner** und **Maria Áts.**

Mit 1 Abbildung.

(Eingegangen am 1. Januar 1941.)

I. Einleitung.

Die oestrogenen Stoffe haben nicht nur eine spezifische oestrogene Wirkung, sondern diese Hormonderivate bringen auch andere Veränderungen zustande. Grumbrecht und Loeser (1) haben über die auf die Schilddrüse und Hypophyse ausgeübte, Bach (2), Bockelmann (3), Störtebecker (4) und andere über die Wirkung auf den Calciumgehalt des Blutserums geschrieben, Bach auch über eine Ca-mobilisierende und Ca-ausscheidungsfördernde Wirkung berichtet. Diese mit dem Ca-Stoffwechsel zusammenhängende Wirkung scheint uns wegen der Erklärung der Pathogenese der Osteomalazie besonders wichtig.

Nachdem — wie erwähnt — die oestrogenen Stoffe einen Einfluß auf den Ca-Haushalt haben, andererseits die osteomalazischen Knochenveränderungen bekanntlich mit einer Störung der Sexualhormonfunktion verbunden sind, sollte im folgenden geprüft werden, ob nicht die oestrogenen Stoffe den Ca- und P-Gehalt der Knochen verändern. Da von manchen Forschern, so von Stepp, Kühnau und Schroeder (5) die Osteomalazie als D-Vitaminmangel der Erwachsenen angesehen wird, richteten wir unser Augenmerk auch auf die Knochenwirkung der oestrogenen Stoffe bei erwachsenen Tieren, die auf einer D-Vitamin-freien, rachitogenen Kost lebten, und verglichen die Knochen mit jener solcher Tiere, bei welchen wir diese Grundkost mit Zufuhr von D-Vitamin ergänzten.

II. Methodik.

Wir hielten die Versuchstiere auf Mc Collumscher rachitogener Diät (Nr. 3143, 33 g Weizenmehl, 33 g Maismehl, 15 g Gelatine, 15 g Gluten, 4 g Osborn-Mendel-Salzmischung), während die Kontrollen zu dieser Kost 1 % Ölmischung erhielten (bestehend aus 9 Teilen Oleum jecoris Morrhuae und 1 Teil Oleum antirachiticum als Devitol sec. Chinoin, pro ccm 15000 I. E. Vitamin D). In 100 g Nahrung waren also ungefähr 1350 I. E. Vitamin D enthalten. Wir gaben das Oestron in der Form von Hogival (Chinoin) und Glandubolin (Richter), das Dihydrooestronbenzoat in der Form von

Progynon (Schering-Kahlbaum) und das Stilboestron im Präparat Synthestrin (Richter).

Zur Bestimmung benutzten wir die Tibien der Tiere, welche wir 2 Stunden lang auf 450° C erhitzten und dann in 1 ccm HCl auflösten und mit destilliertem Wasser auf 100 ccm auffüllten. In 2 ccm dieser Lösung führten wir die Ca-Bestimmungen aus, und zwar durch Fällen mit NH_4-Oxalat, Waschen mit NH_4OH und Titrieren mit $KMnO_4$-Lösung.

Die P-Bestimmungen erfolgten in derselben Lösung mit der photometrischen Methode. Zu 1 ccm Lösung gaben wir 12,5 ccm dest. Wasser und 2,5 ccm Molybdatlösung (5% NH_4-Molybdat in n H_2SO_4), dann 2,5 ccm Hydrochinonlösung (2% in 1‰ H_2SO_4). 5 Minuten später gaben wir 12,5 ccm Carbonat-Sulfitlösung (4 Teile 20%iges Na-Carbonicum cryst. und 1 Teil 15%iges Na-Sulfurosum cryst.) dazu. Nach weiteren 5 Minuten haben wir die blaue Mischung mit dest. Wasser auf 50 ccm aufgefüllt und im Leifo-Photometer mit dem Farbfilter Nr. 620 photometrisiert. Die P-Werte haben wir an einer Kurve abgelesen, welche wir mit der Extinktion einer solchen P-Standardlösung kalibrierten, deren p_H mit jener der zu prüfenden Knochenlösung identisch war.

III. Versuche.

Wir untersuchten zunächst die Zusammensetzung der Knochen folgender Tiergruppen:

Gruppe 1 (24 Ratten). Erhielt eine mit D-Vitamin komplettierte rachitogene Diät (Kontrolle).

Gruppe 2 (29 Ratten). Mit Oestroninjektionen behandelte Tiere, die eine mit D-Vitamin komplettierte Nahrung erhielten.

Gruppe 3 (18 Ratten). Unbehandelte Tiere bei rachitogener Diät gehalten.

Durch diese Versuche sollte entschieden werden, ob an erwachsenen Tieren durch D-Vitaminmangel allein oder Oestronverabreichung allein (ohne D-Vitaminmangel) eine Veränderung im Knochen herbeigeführt werden kann? Die Wirkung der rachitogenen Diät beobachteten wir zu verschiedenen Zeitpunkten von 42 Tagen bis zu 2 Jahren. Das Oestron verabreichten wir jeden zweiten Tag, und zwar in den zwei Versuchsreihen je 200 bzw. 400 I.E.

Das Ergebnis zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1.

Gruppe	Rachitogene Diät, mit welcher Behandlung?	Im Knochen		Zahl der Versuchstiere	Ca : P
		Ca %	P %		
1	Mit D-Vitamin komplettiert	16,7	8,1	24	2,1 : 1
2	Mit D-Vitamin komplettiert, aber mit Oestron behandelt	16,2	8,0	29	2,0 : 1
3	Unbehandelt rachitogen	17,0	8,0	18	2,1 : 1

Wir sehen, daß der Ca- sowie P-Gehalt der Knochen bei allen drei Gruppen der gleiche ist, so daß im Knochen von erwachsenen Tieren weder der Mangel von D-Vitamin (Gruppe 3), noch die Behandlung mit Oestron (Gruppe 2) eine Änderung der Ca- und P-Werte herbeiführt.

Des weiteren prüften wir, ob im Knochen rachitogen ernährter Tiere die Behandlung mit Oestron und anderen oestrogenen Stoffen eine Änderung bewirkt.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe zeigt die Tabelle 2.

Tabelle 2. Ratten an rachitogener Kost ohne Komplettierung mit Vitamin D.

Gruppe	Behandlung	Im Knochen		Änderung %		Zahl der Versuchstiere	Ca : P
		Ca %	P %	Ca	P		
3	Unbehandelt	17,0	8,0	—	—	18	2,1 : 1
4	Mit Oestron	13,7	6,9	− 20	− 14	25	2,0 : 1
5	Mit Dihydrooestronbenzoat	16,3	—	− 4	—	7	
6	Mit Stilboestron	17,3	8,2	+ 2	+ 2	10	2,1 : 1

Die Ergebnisse zeigen, daß in den Knochen der rachitogen ernährten Ratten Ca wie auch P vermindert werden unter dem Einfluß solcher Menge von Oestrin, welche bei normalen Tieren (mit Vitamin D ernährten) ohne Wirkung ist.

Wir beobachteten diese Wirkung bei Gaben von Dihydrooestronbenzoat und bei Stilboestron weder bei mit dem Oestron gleichen, noch mit mehrfachen Dosen.

In der Abbildung zeigen wir die Streuung der Ca- und P-Werte der Gruppe 1—4. In Gruppe 4 zeigt sich bei gleichzeitiger rachitogener und oestrogener Wirkung eine signifikante Abweichung.

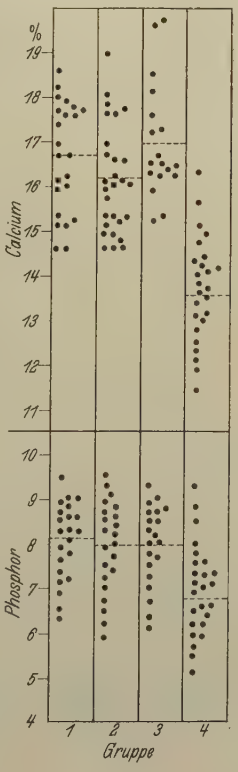


Abb. 1. Streuung der Einzelbestimmungen. Jeder Punkt zeigt den Ca- bzw. P-Gehalt der Knochen je einer Ratte der Versuchsgruppen 1—4 (s. Tabellen) an. Die punktierten horizontalen Linien stellen die Mittelwerte dar.

IV. Besprechung.

Wir messen den Resultaten vom Standpunkte der Ätiologie der Osteomalazie besondere Wichtigkeit bei. Nach unseren Versuchen konnte die Zusammensetzung der Knochen von erwachsenen Ratten

weder eine Vitamin D-freie Ernährung, noch die Wirkung großer Oestrongaben ändern. Die Zusammensetzung ändert sich indessen, wenn die zwei Wirkungen zusammentreffen. Dadurch wird es verständlich, warum in der Therapie sowohl die D-Vitamin-Verabreichung [Kleine (7)], als auch die Entfernung der Eierstöcke [Fehling (8)] oft wirksam ist. Diese Eingriffe schalten einen der Faktoren der doppelten Ätiologie aus.

Es ist eine andere Frage, weshalb nur Oestron eine Ca- und P-mobilisierende Wirkung hat und Dihydrooestronbenzoat und Stilboestron unwirksam sind. Dieser Wirkungsunterschied ist nicht überraschend, wenn wir bedenken, daß die Wirkung dieser Hormone auf den sexuellen Apparat auch nicht die gleiche ist [Grumbrecht und Loeser (6)]. Sie unterscheiden sich auch spektroskopisch [Bugyi (11)] und sie wirken verschieden auf Pflanzen [Scharrer und Schropp (12)].

Unsere Ergebnisse sind vielleicht dadurch erklärbar, daß eventuell nicht das Oestron auf den Knochen wirkt, sondern irgendein Abbaustoff desselben. Nachdem bei dem Abbau des Oestrons — nach unseren heutigen Kenntnissen [Fischer (9), Robson, Schönberg, Fahim (10)] — viele Fraktionen entstehen können, wäre es verständlich, daß im Auftreten der Osteomalazie vielleicht einer dieser Abbaustoffe eine Rolle spielt. Dihydrooestronbenzoat wird unverändert ausgeschieden, so daß intermediäre Abbaustoffe im Organismus nicht entstehen. Stilboestron hat eine vollständig andere chemische Struktur und kann nicht dieselben Abbaustoffe liefern wie Oestron. Ob es sich um eine direkte Wirkung des Oestrons oder um eine solche auf dem Wege eines Inkretionsorgans (Schilddrüse, Thymus) handelt, bleibt einstweilen unentschieden.

Zusammenfassung.

1. Weder D-Vitaminmangel noch Oestroninjektion für sich allein haben einen Einfluß auf den Ca- und P-Gehalt der Knochen von erwachsenen Ratten.

2. Oestron vermindert im Knochen rachitogenetisch ernährter Ratten den Gehalt an Ca und P um 20 bzw. 14%.

3. Dihydrooestronbenzoat und Stilboestron haben diese Wirkung nicht.

Literatur.

1) Grumbrecht, P., u. A. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 345 (1938). — 2) Bach, E.: Klin. Wschr. **1**, 280 (1937). — 3) Bockelmann: Arch. Gynäk. **152**, 492. — 4) Störtebecker, T. P.: Skand. Arch. Physiol. **77**, 78 (1937). — 5) Stepp, W., J. Kühnau, H. Schroeder: Die Vitamine und ihre klin. Anwend. S. 153. Enke Verlag, 1937. — 6) Grumbrecht, P., u. A. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 34 (1939). — 7) Kleine, H. O.: Arch. Gynäk. **151**, 1932. — 8) Fehling, zit. Fürth: Probleme der physiol. u. path. Chemie **1**, 279 (1912). — 9) Fischer, A.: Arch. internat. Pharmacodynam. **58**, 332 (1937). — 10) Robson, J. M., A. Schönberg, H. A. Fahim: Nature **142**, 292 (1938). — 11) Bugyi, Balázs: Z. exper. Med. **101**, 14 (1937). — 12) Scharrer, K., u. W. Schropp: Biochem. Z. **281**, 314 (1935).

Aus der Medizinischen und Nervenklinik Gießen.
(Direktor: Prof. H. Reinwein.)

Zur Frage der Sterilisation und quantitativen pharmakologischen Wertbestimmung verschiedener Arzneisubstanzen.

Von

Hans-Georg Rietschel.

Assistent der Klinik, zur Zeit Oberarzt im Felde.

(Eingegangen am 11. Januar 1941.)

Im Rahmen einer im Auftrage der Wehrmacht ausgeführten, ausgedehnten Untersuchung zur Frage der Sterilisation von Morphin-Scopolamin-Cardiazol-Adrenalin und Strophanthinlösungen war es notwendig, verschiedene Verfahren der Entkeimung zu prüfen und die Haltbarkeit dieser Lösungen auf chemischem und pharmakologischem Wege zu erweisen. Über einige Ergebnisse, die bei diesen Versuchen gewonnen werden konnten, soll im folgenden berichtet werden.

Die meisten Verfahren der Entkeimung irgendwelcher Substanzen sind an die Anwendung von Hitze bis zu verschiedenen Temperaturen für kürzere oder längere Zeit geknüpft. Wärmeschäden, d. h. Substanzverluste, die möglicherweise beim Erhitzen auftreten, können eventuell durch Zusatz eines Schutzstoffs teilweise oder völlig verhindert werden. Zur Vermeidung thermischer Entkeimungsverfahren können auch verschiedene Filter zur Sterilisierung mit oder ohne Zusatz eines Schutzmittels verwandt werden. Jedoch schließt der Gebrauch von Filtern allein nicht die Anwesenheit filtrierbarer Keime unbedingt aus. Infolgedessen haben wir uns bemüht, wenn möglich, auf Entkeimung von Lösungen mittels Filtern allein zu verzichten.

Morphin. Die Sterilisation von Morphinlösungen begegnet erheblichen Schwierigkeiten, da es sich bei dieser Substanz um einen labilen, leicht zerstörbaren Körper handelt. Luftsauerstoff muß bei der Entkeimung in jedem Falle ausgeschlossen sein, denn er führt zur Bildung von Oxymorphin, dem die pharmakologischen Eigenschaften des Morphins, Beruhigung bzw. Lähmung gewisser Hirnzentren nicht zukommen. Neben vielen Verfahren der Sterilisation, bei denen in keinem Falle über die Temperatur von 100° hinausgegangen wird, nennt Rapp (1) das Morphin unter den Arzneistoffen, deren Lösungen sich im Autoklaven bei 120° einwandfrei sterilisieren lassen. Nach eigenen (2) Untersuchungen können diese Angaben bestätigt werden, gleichviel, ob die Ampullen im Luft-CO_2- oder N_2-Strom hergestellt sind. Im O_2-Strom sterilisierte Lösungen werden

teilweise zerstört und verlieren an Wirkung. Nach einjähriger Lagerungszeit weisen im Luftstrom 15 Minuten bei 120° sterilisierte Lösungen einen einwandfreien Wirkungsverlust auf, während im N_2- und CO_2-Strom entkeimtes Morphium keine Substanzeinbuße erkennen läßt.

Wir haben auf Grund unserer Ergebnisse für die Herstellung steriler Morphinlösungen Entkeimung 15 Minuten bei 120° im CO_2-Strom in Vorschlag gebracht. Als Lösungsmittel ist n/1000 HCl zu verwenden.

Die Wertbestimmung solcher Lösungen im pharmakologischen* Versuch kann nach der Mäuseschwänzchenmethode von Herrmann (3) und Straub (4) erfolgen. Die Methode ist in neuerer Zeit in verfeinerter Technik beschrieben worden [Maier (5), Keil u. Kluge (6)], besitzt aber selbst bei Einhalten gewisser, von den Autoren als notwendig angesehener Bedingungen gewisse Nachteile. Gute Resultate erzielt man auch mit der Pulewkaschen (7) Methode der Auswertung am Mäuseauge, die einem ähnlichen Prinzip wie die Mäuseschwänzchenmethode zugrunde liegt. Beide Arten der Wertbestimmung basieren auf einer zentralen Erregung durch Morphium an der Maus. Morphin führt bekanntlich rasch zur Gewöhnung, aus diesem Grunde kann ein und dasselbe Tier nur einmal wöchentlich zum Versuch verwandt werden (nähere Vorschriften s. Originalarbeiten). Die zentrale Erregungslage der einzelnen Tiere ist eine durchaus wechselnde und kann auch bei der einzelnen Maus zu verschiedenen Zeiten verändert sein. Hieraus ergeben sich größere Fehlerquellen, als aus dem Moment der Gewöhnung. Trotzdem stellen die beiden genannten Methoden, die am Mäuseauge und am Mäuseschwänzchen, die einzig brauchbaren unter vielen anderen dar. Wir haben in unseren Versuchen die Mäuseschwänzchenmethode mit Erfolg verwandt, man hat die Möglichkeit einer annähernd genauen Auswertung von Morphinlösungen im Massenexperiment bei einer Fehlerbreite von 10—20%.

Scopolamin. Zur Sterilisation von Scopolamin dürfen laut Vorschrift des Deutschen Arzneibuches, Ausgabe VI, Lösungen, die Scopolaminhydrobromid enthalten, nicht erhitzt werden. Im Gegensatz dazu schreibt das Schweizer Arzneibuch zur Sterilisation die Erhitzung im strömenden Wasserdampf während 30 Minuten vor (Dampftopf). In unseren Versuchen haben wir unter Zugabe einer kleinen Menge Bromwasserstoffsäure eine Reihe von Scopolaminlösungen durch Erhitzen bis auf 120° nach verschiedenen Verfahren sterilisiert und konnten erst nach Monaten bis zu 2 Jahren einen geringen Wirkungsverlust bis 13,2% nachweisen (8). Schon in früheren Arbeiten von Langer (9), Straub (10) und Heubner (11) ist auf die schlechte Haltbarkeit von Scopolaminlösungen hingewiesen worden. Straub (12) hat zum Schutz gegen Zerstörung die

* Auf die zahlreichen chemischen Wertbestimmungen von Morphin, Scopolamin, Cardiazol, Adrenalin und Strophanthin, die teilweise zu recht ungenauen Ergebnissen führen, soll nicht weiter eingegangen werden.

Zugabe von Mannit empfohlen und tatsächlich können dann Scopolaminlösungen unbedenklich 2 Stunden bei 120° im Luft- und Kohlensäurestrom sterilisiert werden, ohne einen Wirkungsverlust zu erleiden. Dieser Schutz hält sicher 2 Jahre, wahrscheinlich viel länger an*. Für die Herstellung und Sterilisation von Scopolaminlösungen hat sich folgendes Verfahren am besten bewährt: Scopolam. hydrobr. 0,03, Mannit 10,0, n/10 H Br 1 ccm, Aqua bidest. ad 100,0. Entkeimung im Autoklaven bei 120° während 15 Minuten im CO_2-Strom.

Es sind zahlreiche Methoden zur pharmakologischen Wertbestimmung von Scopolaminlösungen bekannt. Die Methode von Langer (9) am isolierten Froschherzen genügt, um sehr weitgehende Zersetzungen zu erkennen, nicht aber, um subtilere Fragen des Konservierungsgrades zu entscheiden. Straub (12) empfiehlt, am isolierten ausgeschnittenen Vorhof des Froschherzens zu arbeiten. Diese Methode ist technisch nicht ganz einfach, setzt ein vergleichbares Froschmaterial voraus und läßt keine Massenversuche zu. Ihre Nachteile sind damit deutlich gekennzeichnet. In der Anordnung der Auswertung nach Kühl (13) am Blutdruck der Katze, die sich auf den Antagonismus Azetylcholin-Scopolamin stützt, werden nur sehr unzuverlässige Ergebnisse gewonnen. Wir haben versucht, die Technik durch Ausschaltung zentraler Einflüsse zu verbessern, indem wir die Katzen dekapitierten, eine Adrenalindauerinfusion anschlossen, um den Blutdruck, der durch Scopolamin gesenkt wird, genügend hochzuhalten, haben aber auch in dieser Versuchsanordnung keine Auswertungen vornehmen können. Bei der zweiten oder dritten Scopolamingabe reagiert der Blutdruck kaum noch oder gar nicht mehr. Scopolamin wird nur langsam entgiftet und ausgeschieden, bei erneuter Darreichung kommt es zum Phänomen der Tachyphylaxie [Rietschel (14)].

Ähnlich wie Morphin kann auch Scopolamin nach der Mäuseschwänzchenmethode bestimmt werden. Hierbei sind die Fehlerquellen weit größer als die beim quantitativen Nachweis des Morphins. Keil und Kluge (6) haben die Methode ausgebaut und verfeinert. Eigene Versuche in großem Maßstab haben zu außerordentlich schwankenden Ergebnissen geführt, die für den Nachweis der eventuellen Wirkungsabnahme einer Scopolaminlösung nicht ausreichten (30% und mehr). Die Methode wurde infolgedessen für unsere Zwecke abgelehnt.

Die weitaus besten Resultate einer genauen Scopolaminauswertung ergibt zweifelsohne die Methode von Pulewka (15) am Auge der weißen Maus, bei der die Pupillenweite einer Serie von Mäusen vor und in gewissen zeitlichen Abständen nach Einspritzen von Scopolamin bestimmt wird.

---

* Durch das Entgegenkommen von Prof. Haffner und Dr. Schmid, Tübingen, die unsere Ampullen nach 1—2jähriger Lagerzeit zur Kontrolle nachuntersuchten, konnten unsere Ergebnisse voll und ganz bestätigt werden. Es sei ihnen an dieser Stelle besonders gedankt.

Diese Art der Auswertung hat nicht nur den Vorteil einer außerordentlichen Zuverlässigkeit, sondern ist auch technisch einfach zu handhaben. Dabei wird nicht nur die größte Pupillenweite, sondern auch die Dauer des mydriatischen Effektes als Test gewertet, wodurch bei der zahlenmäßigen Berechnung der Stärke einer Scopolaminlösung ein Flächenwert aus Intensität (Pupillenweite) und Dauer der Wirkung entsteht. Die Fehlergrenze der Methode beträgt höchstens 5—10%.

Cardiazol. Cardiazollösungen können fast beliebig lange unter Zusatz von starken Säuren bei Temperaturen bis 250° sterilisiert werden, ohne eine Wirkungseinbuße zu erleiden [Schmidt, Hildebrandt und Krehl (16)]. Es kann daher praktisch jedes bekanntere Entkeimungsverfahren in Anwendung gebracht werden. Nach unveröffentlichten Versuchen von v. Angerer (17) besitzt Cardiazol selbst eine bakterizide Komponente. Von Angerer konnte nachweisen, daß Keime, die in 1- und 10%ige Cardiazol-Kochsalzlösungen eingesät waren, sich weder vermehrten, noch lebend erhielten, sondern sogar abgetötet wurden. Diese keimtötende Wirkung wird bei Gegenwart von Nährstoffen verringert. Es liegen Beobachtungen vor, die eine erheblich größere Widerstandsfähigkeit von Cardiazollösungen gegenüber Pilzwachstum beweisen. Damit schien eventuell die Möglichkeit gegeben, auf eine Sterilisation ganz zu verzichten, falls jene eben erwähnte keimtötende Kraft als ausreichend angesehen werden konnte. In eigenen Versuchen konnte bewiesen werden, daß diese bakterizide Kraft des Cardiazols nur für die nicht sporenbildenden Bakterien zutrifft. — Cardiazol als 10%ige Lösung vermag Colibakterien und Staphylococcen, die in der Lösung aufgeschwemmt sind, bereits nach einem Tag völlig abzutöten, für sporenbildende Heubazillen gilt dies nicht, diese sind noch nach 60 Tagen deutlich nachweisbar. Infolgedessen müssen Cardiazollösungen genau wie andere Arzneiampullen sterilisiert werden. Eine Wirkungsabnahme bei der Sterilisierung bei Temperaturen bis 120° im Luft-, CO_2-, O_2- oder N_2-Strom konnte in keinem Fall nachgewiesen werden. Zur Sterilisation von Cardiazollösungen wurde 15 Minuten langes Erhitzen bei 120° im Luftstrom in Vorschlag gebracht.

Die Methode von Biehler (18) zur Auswertung von Cardiazollösungen erwies sich als ungeeignet. Der quantitative pharmakologische Nachweis von Cardiazol geschieht nach den von Rietschel (19) angegebenen Bedingungen unter Zugrundelegung des Antagonismus Narkoticum-Analepticum. Ratten im Gewicht von 125—170 g, von gleicher Art, werden mit Pernocton (50 mg/kg) narkotisiert [Vollnarkose, Stadium IV nach v. Nyary (20)]. Es wird dann diejenige Dosis Cardiazol bestimmt, die genügt, um eine Weckwirkung ganz bestimmter Stärke [Stadium I nach Schön (21)] auszulösen. Diese Dosis beträgt 19 mg/kg Cardiazol und weicht bei Einhaltung ganz bestimmter Versuchsbedingungen nur wenig von dem oben genannten Wert ab. Auf diese Weise lassen sich ohne Schwierigkeiten beim Vergleich einer bekannten und unbekannten Cardiazol-

lösung bei einer Auswertung an mehreren Tieren — es genügen pro Versuch 6 — Wirkungsverluste ablesen.

Adrenalin. Die Sterilisation von Adrenalinlösungen ist schwierig. Die Literatur weist eine Fülle von Arbeiten über Entkeimungsverfahren auf. Gemeinsam ist allen die Ausschaltung jeder Alkalität — alkalifreies Glas der Ampullen —. Adrenalinlösungen werden zweckmäßig bei einem p_H zwischen 1,6 und 4 sterilisiert. Der saure Charakter verleiht den Lösungen gegenüber thermischen Einflüssen allein keinen absoluten Schutz. Zur Stabilisierung des vollen Wirkungswertes muß den Ampullen ein Zusatz beigegeben werden. Als Zusätze werden Natriumsulfit, Natriumbisulfit, Trichlorbutylalkohol, Mannit und andere Substanzen empfohlen. In zahlreichen eigenen Versuchen konnte nachgewiesen werden, daß die Schutzwirkung von Natriumsulfit nach Malmy (22) und Natriumbisulfit nach Schlemmer und Schmiz (23) ungenügend ist [Lühr und Rietschel (24)]. Eine deutliche, aber nicht absolute Schutzwirkung ist dem Trichlorbutylalkohol in der von Budde (25) angegebenen Stärke von 0,5% zuzuschreiben. Schlemmer und Schmiz empfehlen ferner Mannit als Stabilisator, unsere eigenen Ergebnisse zeigen jedoch, daß dem Trichlorbutylalkohol und Mannit wohl eine Schutzwirkung über einige Monate zukommt, die jedoch nicht länger als ein Jahr anhält. Entscheidend neben dem sauren Charakter der Lösung für die Haltbarkeit von Adrenalinampullen ist die Herstellung unter Lichtabschluß bei Verdrängung der Luft und Ersatz derselben durch CO_2, gleich ob dreimal 30 Minuten bei 100° oder einmal 15 Minuten bei 120° erhitzt, wobei auf jeden Zusatz eines Stabilisators in Form von Mannit oder Trichlorbutylalkohol verzichtet werden kann. Eigene Versuche ergaben ferner, daß dem Trichlorbutylalkohol auch nur eine keimtötende Kraft bezüglich der nicht sporenbildenden Bakterien zuzuschreiben ist, während Heubazillen in solchen Lösungen nicht verändert werden. Farbveränderungen von Adrenalinlösungen zeigen einen Zersetzungsprozeß und damit im allgemeinen eine Wirkungsabnahme an. Eigenartigerweise bleiben aber Ampullen mit Natriumbisulfit als Stabilisator bei deutlich nachweisbarer Wirkungsabnahme farblos. Andererseits können unter den besprochenen Bedingungen im CO_2-Strom sterilisierte Adrenalinlösungen, ohne jede Substanzeinbuße, einen rötlichen Schimmer zeigen. Deutlich rote oder gar dunkle Adrenalinlösungen sind immer teilweise oder ganz zerstört. Zur Herstellung von Adrenalinampullen wird 15 Minuten langes Erhitzen auf 120° im CO_2-Strom unter Lichtabschluß in schwach saurer Lösung bei einem p_H-Wert von 2,9 empfohlen.

Der quantitative pharmakologische Nachweis von Adrenalin ist nicht schwierig. Hierbei ist der Methode von Elliott (26) am ganzen Tier (Hund oder Katze) vor anderen am isolierten Organ wie dem Läwen- (27), Trendelenburgschen (28) Froschgefäßpräparat oder der Methode von Pisemsky und Rischbieter (29) am isolierten Kaninchenohr der Vorzug

zu geben. In Anlehnung an die Vorschrift von Elliott wurden die Blutdruckhöhen verschiedener einer Katze injizierten Adrenalinlösungen bestimmt und mit der einer Kontrollösung von Adrenalin (angewandte Menge meist 1 ccm einer Lösung 1 : 1000000) verglichen. Bekanntlich ist der Effekt gleicher Adrenalinmengen immer wieder derselbe, so daß beliebig viele Adrenalinlösungen an einem Katzenpräparat ausgewertet werden können. Um Fehler zu vermeiden, bedarf es jedoch einiger Vorsichtsmaßregeln. Zu Beginn der Versuche sind die Höhen der Blutdruckkurven regelmäßig niedriger als im weiteren Verlauf. Die Adrenalinkontrollösung muß demnach solange gegeben werden, bis bei gleicher Adrenalinmenge eine Konstanz der Blutdruckhöhen erreicht ist. Meist ist dies etwa nach der 5. Adrenalininjektion der Fall. Dieses eigenartige Phänomen hängt mit dem wechselnden p_H im Blute des Versuchstieres zusammen. In der Anordnung der Trendelenburgschen Gegenstromapparatur fließen kleine Mengen von Soda, nach Vorschrift 6 ccm m/6 Na_2CO_3/Stunde ins Tier. Es ist bekannt, daß Hunde nach Einspritzen von Sodalösung eine Steigerung der Adrenalinblutdruckwirkung erfahren [Collip (30)]. Wahrscheinlich ist die Ursache der Erscheinung darin zu suchen, daß Adrenalin bei alkalischer Reaktion in erhöhtem Umfang als freie Base vorhanden ist. Nur diese dürfte wirksam sein [Trendelenburg (31)]. Andererseits wird Adrenalin in alkalischem Milieu rascher zerstört. Sobald eine Konstanz im Blute p_H des Versuchstieres eingetreten ist, ändern sich auch die Blutdruckhöhen bei Injektionen gleicher Adrenalinkontrollen hintereinander nicht mehr. Zur möglichst weitgehenden Ausschaltung von Gegenregulationen, die eine Adrenalinblutdrucksteigerung überlagern und eine Auswertung erschweren könnten, werden die Versuchstiere dekapitiert und bekommen vor Beginn des Experiments eine einmalige Dosis von 1—2 mg/kg Atropin. Zur Berechnung eines eventuellen Substanzverlustes wird die Blutdruckhöhe der Kontrollösung gleich 100% gesetzt und die zu untersuchenden Adrenalinlösungen mit dieser Kontrollösung verglichen.

Strophanthin. Zur Sterilisierung von Strophanthinlösungen dürfen nach Wokes (32) nur Temperaturen bis zu 80° angewandt werden. Fasching (33) betont die Sterilisierung im Dampftopf, da im Autoklaven sterilisierte Strophanthinlösungen schon nach kurzer Zeit erheblich an Wirkungswert abnehmen. Budde (34) spricht sich gegen eine Sterilisation unter Druck aus und empfiehlt Erhitzen auf 60—80° an 3—8 aufeinanderfolgenden Tagen. In eigenen Untersuchungen [Lühr und Rietschel (35)] hatten wir uns mit der Sterilisation von g-Strophanthinampullen zu beschäftigen. Die Widerstandsfähigkeit des g-Strophanthins gegenüber Säuren usw. ist nach Johannessohn (36) bei weitem größer als die des k-Strophanthins, das bereits bei 70—80° unter Zusatz einer stark verdünnten Säure vollständig gespalten wird. g-Strophanthin zersetzt sich erst nach längerem Kochen. Aus diesem Grunde einer erhöhten

Widerstandsfähigkeit gegenüber Temperaturen und Einflüssen bei Änderung des p_H konnte bei einer Sterilisierung von g-Strophanthinampullen an ein einfacheres Verfahren bei höheren Temperaturen gedacht werden, wobei vor allem die Gewähr einer völligen Entkeimung bei einem einmal vorgenommenen Prozeß gegeben war. Wir haben versucht, die Sterilisierung bei Temperaturen bis 120° durchzuführen, wobei in verschiedenen Versuchsreihen im Luft-, CO_2-, N_2- und O_2-Strom gearbeitet und gleichzeitig der Einfluß einer verschieden langen Dauer der Einwirkung einer Temperatur von 120° untersucht wurde. Unsere Ergebnisse decken sich im wesentlichen mit denen anderer Autoren. In O_2- und Luftatmosphäre 15 Minuten bei 120° sterilisierte Lösungen nehmen nach einer Lagerzeit von 11 Monaten erheblich an Wirkungswert ab, eine Abnahme der im CO_2-Strom sterilisierten Lösungen erfolgt nur beim Erhitzen von 2 Stunden bei 120° und ist auch nicht erheblich (24,7 %, Lagerzeit 11 Monate). Die im N_2-Strom sterilisierten Lösungen ergaben uneinheitliche Werte und sollen unberücksichtigt bleiben.

Im Anschluß an die Untersuchungen von Straub (12) zur Stabilisierung des Wirkungswertes von Scopolaminlösungen durch Zusatz von Mannit haben wir versucht, auch Strophanthinlösungen gegenüber Zersetzungserscheinungen mit Mannit bei längerer Einwirkung von höheren Temperaturen und genügend langer Lagerungszeit zu schützen. Dieser Versuch ist voll und ganz gelungen. g-Strophanthinlösungen unter Zusatz einer Menge von 10,0 Mannit auf 100 ccm Lösung können 2 Stunden bei 120° im Luft- oder CO_2-Strom erhitzt werden, ohne an Wirkungswert einzubüßen. Wahrscheinlich verhindert Mannit ähnlich wie beim Scopolaminmolekül die Zersetzung der esterartigen Verbindung auch beim Strophanthin die Aufspaltung der ätherartigen Bindung in g-Strophanthidin und Rhamnose. Als Verfahren der Wahl hat sich uns am besten die Herstellung von g-Strophanthinlösungen einmal 15 Minuten bei 120° im CO_2-Strom unter Mannitzusatz im Autoklaven sterilisiert bewährt.

Die Zahl der biologischen Testmethoden zur Bestimmung von Strophanthin sowohl am Kalt- wie am Warmblüter ist außerordentlich groß. Die Straubsche (37) zeitlose Wertbestimmung am Frosch ist einfacher und zuverlässiger als die am isolierten Froschherzen (38) und am Froschherzsinus (39). Die Zahl der Methoden am Warmblüter zum quantitativen Nachweis ist ungleich größer. Die verschiedensten biologischen Wirkungen der Digitalis im Organismus am Hund (40), Kaninchen (41), Meerschweinchen (42), Ratten (43), Mäusen (44), Tauben (45) wurden zur Auswertung herangezogen. Der Methode von Hatcher (46) an der Katze, die in neuerer Zeit von Lind van Wyngaarden (47) verbessert wurde, ist unter allen anderen der unbedingte Vorzug zu geben. Man ermittelt die innerhalb einer bestimmten Zeit verbrauchte Menge an Digitalis bzw. Strophanthin, die genügt, einen Herzstillstand herbeizuführen. An einem Material von 140 Katzen haben wir (35) die nach den verschiedensten oben genannten

Verfahren entkeimten Strophanthinlösungen hinsichtlich ihres Wirkungsverlustes untersucht und mit dieser Methode ausgezeichnete Ergebnisse erzielt.

Durch das Entgegenkommen der Firma Hoffmann-La Roche* gelangten wir in den Besitz einer kleinen Menge von g-Strophanthidin. der Muttersubstanz des g-Strophanthins. In einer kürzlich erschienenen Arbeit konnte ich (48) ausführen, daß das g-Strophanthidin wesentlich herzwirksamer ist als das Aglukon des k-Strophanthins. g-Strophanthidin ist andererseits nur halb so herzwirksam als das zugehörige Glykosid g-Strophanthin. Auch am durch Pernocton geschädigten Herzen konnte im Herz-Lungenpräparat eine deutliche, die Herzleistung verbessernde Wirkung des g-Strophanthidins beobachtet werden.

Schlußfolgerungen. Zur Sterilisierung und pharmakologischen quantitativen Testung haben sich folgende Verfahren als am zuverlässigsten bewährt:

1. Morphin. Entkeimung 15 Minuten bei 120° im CO_2-Strom mit n/1000 HCl als Lösungsmittel. Wertbestimmung mit Hilfe der Mäuseschwänzchenphänomen-Methode nach Straub und Herrmann.

2. Scopolamin. Entkeimung 15 Minuten bei 120° im Autoklaven im CO_2-Strom unter Zusatz von 10 g Mannit 1 ccm n/10 HBr auf 100 ccm Lösung. Wertbestimmung mit Hilfe der Messung der Pupillenweite am Mäuseauge nach Pulewka.

3. Cardiazol. Entkeimung 15 Minuten bei 120° im Luftstrom. Wertbestimmung durch Ermitteln der Weckdosis an narkotisierten Ratten nach Rietschel.

4. Adrenalin. Entkeimung unter Lichtabschluß bei einem p_H von 2,9 (salzsauer) im CO_2-Strom 15 Minuten bei 120°. Wertbestimmung durch Messen und Vergleichen der Adrenalinblutdruckhöhen an dekapitierten Katzen in der Methode nach Elliott.

5. Strophanthin. Entkeimung im Autoklaven und CO_2-Strom 15 Minuten lang bei 120° unter Mannitzusatz. Wertbestimmung an der Katze durch Auffinden der Strophanthinmenge, die einen Herzstillstand erzeugt in der Methode von Hatcher und Lind van Wyngaarden.

Zusammenfassung.

Es werden einige Verfahren zur Sterilisierung von Morphin-, Scopolamin-, Cardiazol-, Adrenalin- und Strophanthinlösungen beschrieben. Die Brauchbarkeit verschiedener Methoden der pharmakologischen Wertbestimmung dieser Substanzen wird erörtert.

* An dieser Stelle sei den Chemischen Werken Hoffmann-La Roche der ganz besondere Dank für die freundliche Überlassung von einer kleinen Menge g-Strophanthidin ausgesprochen.

Literatur.

1) Rapp: Pharmaz. Ztg. **1930**, Nr. 57. — 2) Lühr u. H. G. Rietschel: Veröff. Heeressan.wes., Heft 100, S. 91 (1936). — 3) Herrmann, O.: Biochem. Z. **39**, 216 (1912). — 4) Straub, W.: Dtsch. med. Wschr. **1911**, S. 1462. — 5) Maier, L.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 163 (1931). — 6) Keil, W., u. A. Kluge: Ebenda **174**, 493 (1934). — 7) Pulewka, P.: Ebenda **123**, 259 (1927). — 8) Lühr u. H. G. Rietschel: Veröff. Heeressan.wes., Heft 106, S. 5 (1937). — 9) Langer: Ther. Mh. **1912**, S. 121. — 10) Straub, W.: Pharmaz. Z. Nr. 95, S. 951 (1913). — 11) Heubner, W.: Klin. Wschr. **1926**, S. 1571. — 12) Straub, W.: Münch. med. Wschr. **1913**, S. 2279. — 13) Kühl, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **109**, 295 (1925). — 14) Rietschel, H. G.: Ebenda **193**, 454 (1939). — 15) Pulewka, P.: Ebenda **168**, 307 (1932). — 16) Schmidt, F. Hildebrandt u. L. Krehl: Klin. Wschr. **1925**, S. 1678. — 17) v. Angerer: Mitteil. Firma Knoll Cardiazol **1937**, S. 26. — 18) Biehler, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 693 (1935). — 19) Rietschel, H. G.: Ebenda **186**, 549 (1937). — 20) Nyary, A. v.: Ebenda **165**, 504 (1932). — 21) Schön, R.: Ebenda **113**, 275 (1926). — 22) Malmy: J. Pharmazie et Chim. **6**, 401 (1927). — 23) Schlemmer, F., u. O. Schmiz: Dtsch. Apoth. Ztg. **51**, 357 (1936). — 24) Lühr u. H. G. Rietschel: Veröff. Heeressan.wes. **103**, 110 (1937). — 25) Budde: Ebenda **52** (1912). — 26) Elliott, T. H.: J. Physiol. (Brit.) **44**, 374 (1912). — 27) Läwen, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **51**, 415 (1905). — 28) Trendelenburg, P.: Ebenda **63**, 261 (1910). — 29) Rischbieter, W.: Z. exper. Med. **1**, 355 (1913). — 30) Collip: Amer. J. Physiol. **55**, 450 (1921). — 31) Trendelenburg, P.: Handb. exper. Pharmak. **1924**, S. 1175. — 32) Wokes, F.: Chem. Zbl. **1933**, S. 821. — 33) Fasching: Die pharm. Gehaltsbest. von Strophanthinlös. Inaug. Diss. F. C. W. Vogel, Leipzig 1930. — 34) Budde: Dtsch. Apoth. Ztg. **1931**, S. 74. — 35) Lühr u. Rietschel: Veröff. Heeressan.wes., Heft 103 S. 90 (1937). — 36) Johannsen, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **78**, 83 (1915). — 37) Straub, W.: Biochem. Z. **28**, 392 (1910). — 38) Fasching, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **152**, 211 (1930). — 39) Mansfeld, G., u. Z. Horn: Ebenda **132**, 257 (1928). — 40) Tiffeneau, M.: Bull. Sci. pharmacol. **29**, 68 (1922). — 41) Nyiri, W., u. L. du Bois: J. Pharmacol. (Am.) **40**, 373 (1930). — 42) Münch: Bioassays **1931**, S. 374. — 43) Masucci, P.: J. amer. pharmaceut. Assoc. **11**, 504 (1922). — 44) Krogh, M.: Acta med. scand. (Schwd.) **26**, 512 (1928). — 45) Hanslick, P. I.: J. Pharmacol. (Am.) **33**, 279 (1928). — 46) Hatcher, R., u. I. Brody: Amer. Pharmacol. J. **82**, 360 (1910). — 47) Wyngaarden, C. de Lind van: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **112**, 253 (1926); **113**, 40 (1926). — 48) Rietschel, H. G.: Klin. Wschr. **1940**, S. 1142.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: O. Gros.)

Über die Beeinflussung des Zellkerns durch Pharmaka.

Von

Hans T. A. Haas.

(Eingegangen am 4. Februar 1941.)

Über den Angriffspunkt der Pharmaka innerhalb der lebenden Zelle und ihre Wirkung auf bestimmte Teile der Zelle ist bisher nur wenig bekannt. Seitdem jedoch Dustin den Nachweis erbringen konnte, daß einige Pharmaka im Bereich des Zellkerns morphologische Veränderungen auslösen und den Ablauf der Mitose störend beeinflussen, ist auch in diese Vorgänge wenigstens ein gewisser Einblick gewonnen worden. Alle Stoffe mit einer Wirkung auf den Zellkern nannte Dustin „karyoklastische Gifte". Seine Untersuchungen und die Ergebnisse seiner Mitarbeiter sind von Chodkowski[1] zusammenfassend dargestellt worden. Seitdem sind eine Reihe weiterer Mitteilungen[2–23] erschienen, die die Befunde von Dustin bestätigen und durch die Einbeziehung neuer Untersuchungsobjekte und durch die Einfügung neuer Pharmaka in die Gruppe der kernschädigenden Gifte erweitern.

Diesen Ergebnissen der morphologischen Forschung konnten Brock, Druckrey und Herken[24–26] Untersuchungen an die Seite stellen, die unter Benutzung physiologischer Methoden durchgeführt wurden. In

---

[1] Chodkowski, K.: Protoplasma **28**, 597 (1937). — [2] Brues, A. M., u. A. Cohen: Biochem. J. (Brit.) **30**, 1363 (1936). — [3] Brues, A. M., u. E. B. Jacksen: Am. J. Can. **30**, 504 (1937). — [4] Lits, F. J., H. Kirschbaum u. L. C. Strong: Ebenda **34**, 196 (1938). — [5] Lits, F. J.: Arch. internat. Méd. expér. (Belg.) **11**, 811 (1936). — [6] Delcourt, R.: Ebenda **13**, 499 (1938); **13**, 719 (1939). — [7] Freud, J., u. J. E. Uyldert: Acta lever neer. phys. **8**, 16 (1938), zit. Rona: **107**, 328 (1938). — [8] Solacolu, Th.: C. r. acad. Sci., Paris, **207**, 246 (1938). — [9] Oblaton, E.: Ebenda **208**, 1536 (1939). — [10] Oughterson, A. W., u. R. Tennant u. J. W. Hirshfeld: Proc. Soc. exper. Biol. (Am.) **36**, 661 (1937). — [11] Möllendorf, W. v.: Z. Zellforsch. usw. **27**, 301 (1937). — [12] Möllendorf, W. v.: Ebenda **28**, 512 (1938). — [13] Möllendorf, W. v.: Ebenda **29**, 706 (1939). — [14] Möllendorf, W. v., u. M. Ostrouch: Ebenda **29**, 323 (1939). — [15] Krantz, H.: Ebenda **28**, 709 (1938). — [16] Bucher, O.: Ebenda **29**, 238 (1939). — [17] Carleton, A.: J. Anat. (Brit.) **73**, 416 (1938). — [18] Gravilov, W., u. D. v. Bistram: Bull. Assoc. franç. Étude Canc. **28**, 319 (1939). — [19] Mils, K. O.: J. Morph. (Am.) **64**, 89 (1939). — [20] Jett-Jackson, C. T.: Anat. Rec. (Am.) **74**, 79 (1939), zit. Chem. Z. **1939**, II, S. 4505. — [21] Sokolow, J.: C. r. acad. Sci. URSS. **24**, 298 (1939), zit. Rona: **119**, 199 (1940). — [22] Higbee, E.: Sci. **92**, 80 (1940), zit. Chem. Z. **1941**, I, S. 535. — [23] Wolsky, A.: Arbeit ungar. biol. Frschinst. **12**, 352 (1940), zit. Chem. Z. **1941**, I, S. 386. — [24] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 679 (1939) — [25] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Ebenda **193**, 711 (1939). — [26] Druckrey, H., u. E. Schreiber: Ebenda **188**, 208 (1938).

diesen Versuchen konnte ebenfalls nachgewiesen werden, daß bestimmte Pharmaka einen spezifischen Einfluß auf den Zellkern besitzen. Es wurde dabei eine Reihe pharmakologisch aktiver Substanzen am Seeigelei in ihrer Wirkung auf den Atmungsstoffwechsel und die Zellteilungsvorgänge untersucht, und zwar unter Bestimmung der Grenzdosen, bei denen eine der beiden Wirkungen erstmalig in Erscheinung trat. Bei einem Teil der geprüften Stoffe wurde in verdünnter Lösung vornehmlich der Ablauf der Zellteilung hemmend beeinflußt. Eine Schädigung des Stoffwechsels machte sich dagegen erst bei der Anwendung weit höherer Dosen bemerkbar. Diese Stoffe wurden als Kerngifte angesehen. Eine zweite Gruppe von Substanzen verhielt sich gerade umgekehrt. Bei diesen fielen die Konzentrationen, die eine Änderung des Stoffwechselgeschehens auslösten, erheblich außerhalb des Dosierungsbereiches, der zu einer Störung der Zellteilungsvorgänge führte. Diese Stoffe besaßen somit vor allem cytoplasmaschädigende Eigenschaften.

Diese Befunde Druckreys und seiner Mitarbeiter gewannen für uns ein besonderes Interesse bei der Durchführung von Untersuchungen[27], die sich mit dem Einfluß verschiedener Pharmaka auf den Histamingehalt der Haut befaßten. Bei einem Vergleich der beiden Versuchsreihen ergab sich die überraschende Tatsache, daß zwischen den Ergebnissen von Druckrey und denen der eigenen Versuche in einer Beziehung eine auffallende Parallele vorhanden war. Diese bestand darin, daß alle die Stoffe, die nach Druckrey in die Gruppe der Kerngifte einzureihen waren, eine Histaminausschüttung in der Haut bewirkten, während alle anderen Stoffe, die am Seeigelei in erster Linie die Atmungs- und damit Protoplasmafunktionen beeinflußten, eine Freisetzung von Histamin vermissen ließen. Die Möglichkeit eines tatsächlichen Zusammenhangs blieb natürlich mit dieser Beobachtung allein noch recht unbestimmt, zumal bei der verschiedenen Fragestellung und der völlig unterschiedlichen Untersuchungsmethodik daran gedacht werden mußte, daß die Einteilung der Pharmaka in zwei gleichartige Gruppen rein zufällig übereinstimmend ausgefallen war.

Wir versuchten daher auf experimentellem Wege weitere Hinweise dafür zu gewinnen, daß die aufgezeigten Parallelen wirklich bestehen. Diese neuen Versuche wurden ermöglicht durch die Arbeiten von Wels[28], der an lebenden Muscheleiern im Dunkelfeld und Fluoreszenzbild beobachten konnte, daß nach der Bestrahlung mit Ultraviolettlicht nur der Kern Veränderungen unterliegt. Wottge[29] führte den gleichen Nachweis für die Röntgenstrahlen. Die Beeinflussung des Kernes wird durch eine Koagulation des Eiweißes hervorgerufen und ist, wie Wels auf Grund von Reagensglasversuchen nachweisen konnte, an eine chemische Umwandlung des Eiweißmoleküls geknüpft.

---

[27] Haas, H. T. A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 160 (1941). — [28] Wels, P.: Ebenda **189**, 113 (1938). — [29] Wottge, K.: Ebenda **193**, 96 (1939).

Diese Untersuchungsmethode machten wir uns für die eigene Fragestellung zunutze, mit dem Erfolg, daß wir gleichfalls feststellen konnten, daß eine Reihe von Pharmaka eine besondere Wirkung auf den Zellkern entfalten.

Eigene Versuche.

Die Versuche wurden an Teichmuscheln (Anodonta) durchgeführt. Die Technik der Eientnahme und der übrigen Versuchsanordnung ist von Wels entlehnt. Die Beobachtung der lebenden Eier erfolgte ausschließlich im Dunkelfeld unter Benutzung des Kardioidkondensors und eines Doppelokulars, das infolge der plastischen Sicht die Erkennung pathologischer Veränderungen erleichterte. Im allgemeinen begnügten wir uns mit Trockenobjektiven und 200—400fachen Vergrößerungen. Zur Beurteilung feinerer Einzelheiten wurden in allen Fällen mehrere Kontrollen mit der Ölimmersion vorgenommen.

Die Beobachtungsdauer wurde durchschnittlich auf eine halbe Stunde und im Maximum auf 45 Minuten ausgedehnt. In diesem Zeitraume bleibt der Kern in unbehandelten und frischen Präparaten unverändert. Abgesehen von einem oder mehreren deutlich sichtbaren Kernkörperchen und einem ungleichmäßig konturierten Anhangsgebilde des Kernkörperchens erscheint der Kern als eine tiefschwarze runde Scheibe innerhalb der weiß aufleuchtenden Plasmasubstanz. Bei starker Vergrößerung läßt sich im Kerninnern eine feine Körnelung erkennen, die sich in lebhafter Molekularbewegung befindet. Die optische Leere (Schwärze) des Kerns und die anhaltende Molekularbewegung als Zeichen, daß der Kerninhalt noch flüssig ist, sind nach Wels als ein brauchbares Kriterium für die Beurteilung zu verwenden, ob der Kern sich noch im lebenden Zustande befindet. Diese Angaben konnten durch die eigenen Beobachtungen bestätigt werden. Präparate, die nicht überwiegend diese gleichmäßige Schwärze des Kerns in den unbehandelten Ausgangspräparaten aufwiesen, wurden als ungeeignet von vornherein ausgeschieden. Bei der Durchführung der Versuche unmittelbar im Anschluß an die Entnahme der Eier aus der Muschel konnte eine Trübung des unbehandelten Kerns nur in einigen wenigen Fällen beobachtet werden.

Das Plasma der Eizelle zeigt eine feinkörnige Struktur, die im Dunkelfeld hell aufleuchtet. Die einzelnen Körnchen weisen in der lebenden Zelle ebenfalls eine lebhafte Molekularbewegung auf.

Bei den Versuchen mit den verschiedenen Pharmaka wurde je 1 Tropfen des Materials aus der Keimdrüse mit je 1 Tropfen des zu prüfenden Stoffes auf dem Objektträger gemischt. Als Lösungsmittel wurde Froschringer benutzt, nachdem in Vorversuchen nachgewiesen war, daß die Muscheleier durch den Ringerzusatz nicht geschädigt wurden. Die Auswahl der Pharmaka war bestimmt durch die früheren Versuche an der Haut[27] und ihre Löslichkeit in Ringer. Zusätzlich wurden noch einige Stoffe hinzugefügt,

die z. T. auch von Druckrey[24] am Seeigelei verwendet wurden. Jede dieser Substanzen wurde in einem weiten Konzentrationsbereich untersucht. Für jede benutzte Dosis wurden mehrere Einzelversuche, zumindest 3 bis 4, durchgeführt. In ihren Einzelheiten ist die gewählte Versuchstechnik aus der Wiedergabe des Protokolls über das Colchicin ersichtlich.

Tabelle 1. Colchicin.

Konzentration	Plasmaschädigung	Kernschädigung
1 : 10	+ +	+ +
1 : 50	+ + + + + −	+ + + + + +
1 : 200	+ + + +	+ + + +
1 : 500	− − + − − −	+ + + + + −
1 : 1 000	− − − −	+ + + +
1 : 5 000	− − −	+ + +
1 : 10 000	− − − − − − −	+ + + + + + +
1 : 20 000	− − − − − −	− − + + + −
1 : 40 000	− − − − − −	+ − − + + +
1 : 100 000	− − − − − −	− − − − − −

Der Eintritt einer Kernschädigung nach dem Einwirken der Pharmaka zeigte sich ebenso wie in den Versuchen von Wels nach der Bestrahlung der Eizellen mit Ultraviolettlicht in Form einer diffusen Trübung des Kerninnern, der eine Zunahme der beweglichen Körnchen und eine Behinderung der Molekularbewegung vorausging. Derartige Veränderungen waren jedoch nur bei der Benutzung der oberen Grenzkonzentrationen, die gerade noch ausreichten, um eine Kernschädigung herbeizuführen, und in dem benachbarten Dosierungsbereich zu beobachten. Bei einer Verwendung stark schädigender Dosen kam es in allen Fällen innerhalb kurzer Zeit zu einer homogen milchigen Trübung des gesamten Kerninhalts, die z. T. derartige Ausmaße annahm, daß eine Abtrennung des Kernkörperchens kaum noch durchzuführen war. Das Innere des Kernkörperchens zeigte dabei selbst eine gleichförmig milchige Beschaffenheit. Dieser Zustand des Kerns dürfte gleichbedeutend mit der Gerinnung seines Inhalts sein.

Für die Beurteilung einer Schädigung des Cytoplasmas waren wir ausschließlich auf das Auftreten von Koagulationserscheinungen angewiesen. Ihr Eintritt gab sich in der Abnahme der Molekularbewegungen zu erkennen, auf die zumeist bald die Verklumpung und Ausflockung der Protoplasmastrukturen folgte. Vielfach kam es vor Beginn der Koagulation zu einer Verstärkung der Molekularbewegungen. Diese nahmen dabei teilweise innerhalb der ersten Minuten nach der Einwirkung der Pharmaka äußerst lebhafte Formen an, um dann im weiteren Verlauf spätestens nach 20—30 Minuten in die irreversible Gerinnung überzugehen. Dieser Zustand dürfte nicht mehr mit dem Leben vereinbar sein und den Eintritt des Zelltodes bedeuten.

Unter Benutzung dieser Kriterien wurde eine größere Anzahl von Pharmaka auf ihre protoplasma- und kernschädigenden Eigenschaften

untersucht. Das gesamte Ergebnis ist in der Tabelle 2 zusammengefaßt. Die angeführten oberen Grenzdosen beziehen sich auf Gaben, bei denen in der Mehrzahl der Versuche eine Kern- bzw. Plasmaschädigung eintrat. Die Zahlen der letzten Spalte geben das Verhältnis der auf das Protoplasma und auf den Kern wirksamen Gaben wieder. Die Einteilung der untersuchten Stoffe wurde nach allgemeinen Gesichtspunkten vorgenommen. Eine 1. Gruppe umfaßt Alkaloide, Stoffe mit lokaler Reizwirkung und Narkotika. In der 2. Gruppe sind alle die Stoffe eingereiht, bei denen die kernschädigende bzw. protoplasmaschädigende Konzentration nahezu zusammenfielen.

Tabelle 2.

Substanz	Notwendige Konzentration für I Plasmaschädigung	Notwendige Konzentration für II Kernschädigung	I : II
Coffein	1 : 20 000	1 : 10 000 000	500
Nikotin	50	20 000	400
Colchicin	200	40 000	200
Emetin hydrochlor.	20 000	1 000 000	50
Allylformiat	500	100 000	200
Cantharidin	10 000	1 000 000	100
Sublimat	100 000	5 000 000	50
Terpinhydrat	5 000	200 000	40
Äthyl-Urethan	200	20 000	100
Paraldehyd	500	10 000	20
Veratrin	10 000	100 000	10
Pepton Witte	200	2 000	10
Trichloressigsäure	50 000	500 000	10
Ameisensäure	10 000	40 000	4
Arsenik	10 000	50 000	5
Coff. natr. benz.	50	2 000	40
Veratrin sulf.	500	500	1

Mit Ausnahme des Emetin wurden bei den Alkaloiden die reinen Basen verwandt. Beim Coffein und Veratrin wurden vergleichsweise auch mit den entsprechenden Salzen Versuche angestellt. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, bestätigen diese Versuche nur die bereits seit den Untersuchungen von Gros[30] hinreichend bekannte Tatsache, daß die reinen Basen stärkere Wirkungen auslösen. Die Unterschiede in der Größe des Quotienten bei den Versuchen mit den reinen Basen und mit den entsprechenden Salzen scheinen darauf hinzuweisen, daß für die Salze nicht nur das Eindringungsvermögen in die ganze Zelle, sondern speziell auch in den Kern vermindert ist.

[30] Gros, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **63**, 80 (1910).

Bei der Mehrzahl der untersuchten Pharmaka trat eine Veränderung des Kerninhalts bereits bei Konzentrationen in Erscheinung, die weit außerhalb des Dosierungsbereiches lagen, der eine ernsthafte Schädigung des Protoplasmas auslöste. Bei der 2. Gruppe von Substanzen lagen dagegen die kernschädigenden Gaben in unmittelbarer Nähe der Dosen, die auch das Cytoplasma zur Gerinnung brachten und dadurch den Zelltod herbeiführten. Diese beiden Extreme gehen allerdings fließend ineinander über, wie die Stufenskala der Quotientenwerte deutlich erkennen läßt. Außer den in der Tabelle aufgeführten Substanzen wurde noch das Adhaegon als Stoff mit starker Oberflächenaktivität untersucht. Hierbei konnte weder eine Kern- noch Protoplasmaschädigung selbst in Konzentrationen von 1 : 10 nachgewiesen werden.

Bei der Beurteilung der Resultate, insbesondere der aufgeführten Quotienten, ist aber zu bedenken, daß die Beobachtung des Muscheleies im Dunkelfeld es zwar gestattet, selbst relativ geringe Trübungen und Veränderungen des ursprünglich tiefschwarzen Zellkerns festzustellen, daß diese Methode aber nicht genügt, um feinere Prozesse innerhalb des körnigen und stark aufleuchtenden Protoplasmas zu erfassen. Es kamen daher für die Feststellung einer Schädigung des Plasmas nur stärkere anatomische Veränderungen in Betracht, die im allgemeinen irreversibel verliefen und somit einem Aufhören der Lebensfunktionen der Zelle gleichzusetzen waren. Infolgedessen dürften die angeführten Quotienten im allgemeinen etwas zu hoch angesetzt sein; denn es ist anzunehmen, daß sicher bereits vor dem Auftreten der Gerinnungsvorgänge im Plasma Veränderungen der normalen Funktionsfähigkeit eintreten. Damit würden aber die geringen Unterschiede, die zwischen der kern- und plasmaschädigenden Wirkung in der 2. Gruppe gefunden wurden, noch mehr verkleinert werden, so daß also hier praktisch die kern- und plasmaschädigenden Konzentrationen nahezu zusammenfallen dürften. Daß diese Auffassung berechtigt ist, wird durch die Ergebnisse von Druckrey geradezu bestätigt. Druckrey mißt den Eintritt einer Plasmaschädigung am Atmungsstoffwechsel der Zelle, und er hat damit die Möglichkeit, auch Veränderungen leichteren Grades in der Funktionsfähigkeit des Plasmas experimentell zu erfassen. Dieser Vorteil kommt bei den Mitteln, die der 2. Gruppe angehören, sehr sinnfällig zum Ausdruck, vor allem in den Werten der Quotienten, die in all diesen Fällen bei Druckrey unter 1 liegen. Damit wird aber die ausgesprochene Wirkung dieser Stoffe auf das Cytoplasma erst recht unterstrichen.

Demgegenüber hat die eigene Methode den Vorzug, daß sie Veränderungen am Kern bereits erkennen läßt, bevor im allgemeinen eine Hemmung der Kernteilungsvorgänge aufzutreten pflegt. Infolgedessen liegen in den eigenen Versuchen bei der Mehrzahl der untersuchten Substanzen die Grenzkonzentrationen, bei denen eine Kernschädigung erstmalig beobachtet wurde, oberhalb der von Druckrey gewonnenen Werte.

Trotz dieser Unterschiede zwischen den Ergebnissen Druckreys und den eigenen Untersuchungen, die u. E. allein durch die verschiedene Versuchstechnik bedingt sind und auf einer subtileren Erfassung teils der kern-, teils der plasmaschädigenden Wirkung beruhen dürften, bleibt aber die grundlegende Einteilung der Pharmaka in eine Gruppe der Cytoplasmagifte und eine Gruppe der Kerngifte klar erkennbar. In diesem Punkte decken sich die eigenen Befunde mit den von Druckrey gewonnenen so gut, daß in beiden Versuchsreihen die gleichen Pharmaka durch ein Überwiegen von kernschädigenden Eigenschaften gekennzeichnet sind und auf der anderen Seite wiederum dieselben Pharmaka ein derartiges Vorherrschen einer kernschädigenden Wirkung vermissen lassen.

Soweit die gleichen Pharmaka benutzt wurden, ist im Vergleich zu den eigenen Untersuchungen noch über einige Befunde aus der morphologischen Forschungsrichtung zu berichten. Auf Grund dieser Beobachtungen steht in der Reihe der Gifte mit einer besonderen Wirkung auf den Zellkern das Colchicin[1–23] an erster Stelle. Weiterhin findet sich in der Gruppe der Kerngifte das Urethan[11 31] erwähnt, für das außerdem bereits Warburg[32] und Bieling[33] nachweisen konnten, daß durch diesen Stoff die Zellteilung stärker gehemmt wird als die Atmung. Daneben sind nach Dustin[1] und anderen Autoren[3, 31] auch Arsenik und eine Reihe von Arsenverbindungen sowie Pepton[1] in die Gruppe der karyoklastischen Gifte einzureihen, während nach den übereinstimmenden Befunden von Druckrey und der eigenen Untersuchung bei diesen Stoffen ein kernschädigender Einfluß zurücktritt. Für die Wirkung von Säuren auf die lebende Zelle lassen sich schließlich die Versuche von Fischer[34] zitieren, bei denen an Eiröhren und Hodengewebe von Stenobothrus lineatus unter der Einwirkung von Essigsäure in verschiedener Konzentration Koagulationserscheinungen im Plasma und eine Farbstoffanreicherung an den ausgefallenen Eiweißstrukturen eintrat. Die Anfärbung des Kerns war stets von Fällungsvorgängen im Plasma begleitet und mit dem Auftreten von Koagulations- und Schrumpfungsprozessen im Kerninhalt verbunden. Auch bei Zeiger[35] findet sich erwähnt, daß der Kern im lebenden Gewebe nach der Anwendung von Essigsäure erst sichtbar wird, wenn bereits Veränderungen des Protoplasmas stattgefunden haben.

Eine Differenzierung der Vorgänge des Kerns unter dem Einfluß der Pharmaka ist bisher nicht gelungen. In orientierenden Versuchen wurde geprüft, ob Unterschiede hinsichtlich des Ablaufes der Ninhydrinreaktion bzw. der Farbreaktion mit Nitroprussidnatrium auf Glutathion und der Indophenolblausynthese nach der Anwendung der Pharmaka auftraten.

---

[31] Ludford, R. J.: Arch. Zellforsch. **18**, 411 (1936). — [32] Warburg, O.: Unters. üb. d. Stoffwechsel d. Tumoren. Berlin 1926. — [33] Bieling, R.: Z. Hyg. **100**, 270 (1923). — [34] Fischer, J.: Chromosoma **1**, 157 (1939). — [35] Zeiger, K.: Z. Zellforsch. usw. **22**, 607 (1935).

Alle diese Versuche ergaben jedoch keine von der Norm abweichenden Resultate. Die Ninhydrinreaktion wurde nach den Angaben von Berg [36] vorgenommen und die übrigen Reaktionen nach den Vorschriften von Ries [37] ausgeführt.

Zusammenfassung.

Unter Benutzung der Angaben von Wels konnte bei der Betrachtung im Dunkelfeld an Muscheleiern eine Änderung des Kerninhalts und der Plasmastrukturen nach der Anwendung von Pharmaka festgestellt werden. Die Ermittlung der oberen Grenzkonzentrationen, bei denen am Kern bzw. Plasma Trübungs- oder Gerinnungsprozesse auftraten, führte zu der Feststellung, daß eine Reihe von Pharmaka durch eine spezifische Wirkung auf den Zellkern ausgezeichnet sind, während bei anderen Substanzen der kernschädigende Einfluß nahezu an die gleichen Konzentrationen gebunden ist, die auch das Cytoplasma schädigen. Die Einteilung der untersuchten Pharmaka in eine Gruppe der Cytoplasma- und eine Gruppe der Kerngifte steht bei den eigenen Untersuchungen in Übereinstimmung mit den Resultaten von Druckrey, die an Seeigeleiern bei der Bestimmung der Änderung des Atmungsstoffwechsels und der Beeinflussung der Kernteilungsvorgänge gewonnen wurden.

[36] Berg, W.: Pflügers Arch. **195**, 543 (1922). — [37] Ries, E.: Publ. Staz Zool. Napoli **16**, 363 (1937).

Aus der Universitäts-Frauenklinik Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. Siegert.)

Der Gehalt der Plazenta an gonadotropem Hormon in den einzelnen Schwangerschaftsmonaten*.

Von

Edgar Augustin, Volontärassistent.

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. Dezember 1940.)

Die Technik und der diagnostische Wert der von Aschheim und Zondek 1927 ausgearbeiteten Schwangerschaftsreaktion sind heute allgemein bekannt. Harn von Schwangeren wird infantilen weiblichen Mäusen an drei aufeinanderfolgenden Tagen injiziert. Nach 100 Stunden zeigt sich an den Ovarien

Follikelreifung = Reaktion I,
Blutungen in die Follikel = Reaktion II

und

Corpora lutea bzw.
Corpora lutea atret. = Reaktion III.

Diese Reaktionen werden nach Zondek durch zwei Hormone hervorgerufen, die mit der Implantation des Eies schlagartig in großen Mengen im Harn Schwangerer ausgeschieden werden, von Aschheim und Zondek Prolan A und Prolan B genannt, heute auch als gonadotropes Hormon des Hypophysenvorderlappens oder kurz auch Hypophysenvorderlappenhormon (HVLH.) bezeichnet.

Da Aschheim und Zondek in vorausgegangenen Versuchen, in denen sie Transplantate von Drüsen mit innerer Sekretion in infantile Mäuse transplantierten, festgestellt hatten, daß dieser die Ovarien aktivierende Stoff nur im Hypophysenvorderlappen zu finden ist, führten sie das vermehrte Auftreten von Prolan im Harn Schwangerer auf eine gesteigerte Tätigkeit der Hypophyse in der Schwangerschaft zurück.

Lange blieb diese Theorie vom prähypophysären Ursprung des HVLH. im Schwangerenharn unangezweifelt, verliefen doch Untersuchungen anderer Autoren gleichsinnig, indem Injektionen von HVL.-Extrakten die Allgemeinentwicklung der Versuchstiere beschleunigten (Cushing, Exner, Schaefer, Cerletty), zum anderen die Entwicklung der Geschlechtsdrüsen gegenüber unbehandelten Tieren des gleichen Wurfes stark gefördert wurden (Evans, Long).

---

* D 25.

Dazu paßte auch das makroskopische und mikroskopische Bild der Schwangerschaftshypophyse, das besonders gegen die Mitte der Schwangerschaft auf eine gesteigerte Tätigkeit schließen läßt.

Wie waren nun aber die Untersuchungen von Hirose in diesen Rahmen einzuordnen, der schon 1921 durch Implantation von Plazentastückchen bei infantilen weiblichen Mäusen eine Aktivierung der Ovarien erreicht hatte. Ähnliche Versuche wurden später mit gleichem Erfolg vielfach wiederholt, besonders wenn Plazenten der ersten Schwangerschaftsmonate verwandt wurden. Für Plazenten vom 6. Schwangerschaftsmonat ab verliefen die Ergebnisse teils positiv, teils negativ.

Zondek nahm für die Plazenten eine spezifische Fähigkeit an, das von der Hypophyse abgegebene Hormon zu stapeln. Sie bilde also nicht selbst das die Ovarien aktivierende Hormon, sondern in ihr reichere sich das in der Hypophyse gebildete Hormon nur an.

Die Richtigkeit dieser Theorie vom prähypophysären Ursprung des in Plazentagewebe enthaltenen gonadotropen Hormons wurde angezweifelt, als weitere experimentelle Ergebnisse nicht mehr in den alten Rahmen einzuordnen waren.

So hatte Philipp Hypophysengewebe von in der Schwangerschaft verstorbenen Frauen in infantile weibliche Mäuse transplantiert und nie eine positive Reaktion in den Ovarien erhalten. Dies wurde durch Zondek, Fels, Vozza experimentell bestätigt. Dagegen erhielt Philipp immer positive Ergebnisse, wenn er Hypophysengewebe von nichtschwangeren Frauen und auch von Männern transplantierte. Daraus folgerte Philipp: Bildungsstätte des gonadotropen Hormons in der Schwangerschaft ist das Chorionepithel der Plazenta, nicht die Hypophyse. Das im Harn ausgeschiedene gonadotrope Hormon ist somit ebenfalls Produkt der Plazenta, nicht der Hypophyse.

Viele Untersuchungen sind seitdem angestellt worden, die die Theorie von Philipp stützen. So der Nachweis, daß sich das histologische Bild der Hypophyse langsam im Verlauf der Schwangerschaft ändert, das gonadotrope Hormon im Harn aber schon vom Zeitpunkt der Eiimplantation ab vermehrt ausgeschieden wird (Kurzrock, Kirchmann, Creelmann).

Dann sinkt in den ersten 8 Wochenbettagen die Ausscheidung des Hormons zur Norm ab (Zondek, Runge, Clausnitzer), die regressiven Vorgänge in der Hypophyse verlaufen dagegen sehr langsam.

Umgekehrt bleibt die Aschheim-Zondek-Reaktion (A.-Z.-R.) so lange positiv, als lebendes Choriongewebe im Uterus oder sonstwo im Körper vorhanden ist (v. Arvay, Kido, Philipp); sie sinkt rasch zur Norm ab, sobald z. B. durch Abrasio der Uterus von plazentaren Elementen entleert wird. Dagegen wird gonadotropes Hormon im Harn dann in einem auffallend erhöhten Maße ausgeschieden, wenn besonders aktives Choriongewebe vorhanden ist, wie es beim Chorionepitheliom der Fall ist (Schwalm, Mac Harold, Heim, Mayer, L. Edeiken, Mazer, Feorge), so daß

sich darauf ein experimenteller Nachweis für das Vorliegen dieses pathologischen Zustandes bauen konnte.

Dies gilt auch für das Chorionepitheliom des Hodens (Heidrich, Fels und Mathias), so daß allgemein zu sagen ist: eine positive A.-Z.-R. gibt es immer bei Vorhandensein lebenden Choriongewebes. Das wurde von Kido durch Transplantation lebenden Choriongewebes in die vordere Augenkammer von Kaninchen im Versuch bewiesen.

In Versuchen an Hähnen hat Eskin festgestellt, daß das gonadotrope Hormon der Plazenta nicht identisch ist mit dem gonadotropen Hormon der Hypophyse.

Wenn auch alle diese Tatsachen für einen plazentaren Ursprung des gonadotropen Hormons im Harn Schwangerer sprechen, so ist zuzugeben, daß damit nicht mit der gleichen Sicherheit der Nachweis über die Herkunft des Hormons erbracht ist, wie es z. B. für das Follikulin durch die Arbeiten von Waldstein und Fels geschehen ist. Es würde dies der Fall sein, wenn die Forderung von Zondek erfüllt werden könnte: daß bei einem trächtigen Tier die Hypophyse entfernt wird, die Schwangerschaft weitergeht und weiterhin gonadotropes Hormon produziert und ausgeschieden wird. Versuche an Affen verliefen immer negativ, da die Tiere binnen kurzem abortierten.

So wird es in der Frage der Herkunft des gonadotropen Hormons in der Schwangerschaft weiterhin die heute vertretenen 3 Hypothesen geben:

1. Das gonadotrope Hormon in der Schwangerschaft ist prähypophysären Ursprungs (Zondek, Aschheim, Fels, Westmann, Mayer).

2. Das gonadotrope Hormon wird in der Plazenta gebildet (Philipp, v. Arvay, Vozza, Eskin, Mizuno, Maroudis).

3. Das gonadotrope Hormon wird in der Hypophyse und in der Plazenta, aber vielleicht auch noch in anderen Drüsen gebildet (Kaplun).

Wir unternahmen es, einmal den Gehalt der Plazenta an gonadotropem Hormon in den einzelnen Schwangerschaftsmonaten festzustellen. Analog der Darstellung von Acetonpulver aus HVL. nach Janssen und Loeser bedienten wir uns dieser Methode zur

Darstellung von Acetontrockenpulver aus Plazentagewebe.

10–30 g der frisch gewonnenen Plazenta werden in linsengroße Stückchen geschnitten und in der 10fachen Menge wasserfreien Acetons für 24 Stunden belassen. Über dem Filter wird dann das Aceton abgegossen und für weitere 24 Stunden durch die gleiche Menge wasserfreies Aceton ersetzt. Die faserige Plazentamasse wird danach über dem Filter vom Aceton getrennt, im kalten Föhnwind getrocknet und für 48 Stunden im Vakuumexsikkator über Phosphorpentoxyd aufbewahrt. Die Masse ist absolut trocken geworden, wird im Achat- oder Porzellanmörser fein zu Pulver zerrieben und in verschließbaren Gläsern im Vakuumexsikkator weiterhin bis zum Gebrauch aufbewahrt.

Drei Gründe waren für uns bestimmend, mit Plazentapulver zu arbeiten, statt mit wässerigen Extrakten oder durch Implantation von Plazentastückchen:

1. Die Austestversuche nehmen eine lange Zeit in Anspruch. Wässerige Extrakte verlieren aber sehr rasch an Wirksamkeit, auch wenn sie im Eisschrank aufbewahrt werden. Noch weniger ist Plazentagewebe über längere Zeit zur Implantation zu konservieren. Dagegen läßt sich das gonadotrope Hormon in der Form des Plazentapulvers sehr lange in seiner Wirksamkeit erhalten. Janssen und Loeser haben Hypophysenpulver ausgetestet und noch die gleiche Wirkung nach einem halben Jahr festgestellt. In unseren Versuchen, die sich über eine Zeit von 8 Monaten erstreckten, konnten wir dies für Plazentapulver bestätigen.

2. Die Dosierung durch Auswiegen des Plazentapulvers ist sehr einfach, dennoch sehr genau. Dabei ist zu beachten:

10 g Plazentagewebe mens III—IV geben 1 g Trockenpulver.
9 g Plazentagewebe mens V geben etwa 1 g Trockenpulver.
8 g Plazentagewebe mens VI—VII geben etwa 1 g Trockenpulver.
7 g Plazentagewebe mens VIII—X geben etwa 1 g Trockenpulver.

3. Das Plazentamaterial als Pulver suspendiert und injiziert steht dem Versuchstier auf einer größeren Resorptionsfläche zur Verfügung, als wenn es als Transplantat eingebracht wird. So ist eher zu erwarten, daß sich in der Versuchszeit von 100 Stunden der Gesamthormongehalt des Pulvers an dem Versuchstier auswirkt, als wenn Plazentagewebe implantiert wird. Wir erklären uns die negativen Ergebnisse anderer Autoren mit Plazenten vom Ende der Schwangerschaft dadurch, daß entweder zu wenig Plazentagewebe implantiert wurde oder aber aus dem Transplantat in der Versuchszeit von 100 Stunden nicht rasch genug der Gesamthormongehalt freigemacht werden konnte.

Unsere Testversuche machten wir mit Ratten von 40—50 g Gewicht. Das Plazentatrockenpulver wurde in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert, so daß pro Injektion 0,3—0,5 ccm Lösung subcutan injiziert werden mußten. Injektionszeiten analog der A.-Z.-R. In der Auswertung hielten wir uns an die Definition für eine Ratten-Einheit (RE.) nach Burns-Evans-Simpson-Janssen:

Eine RE. gonadotropes Hormon ist in derjenigen Menge Plazentapulver, die in 50% der Versuchstiere positive A.-Z.-R. I—III auslöst.

Für unsere Versuche nahmen wir Gruppen von 4—6 Tieren. Demnach war für uns im Plazentapulver eine RE., wenn 2 bzw. 3 Tiere positive A.-Z.-R. I—III zeigten. Vielleicht mag die Tierzahl je Untersuchungsgruppe gering erscheinen, aber wir glauben doch, daß wir bei der Vielzahl unserer Versuche, in der wir 450 Tiere untersuchten, ein klares und eindeutiges Bild über den Hormongehalt bekamen.

Bei unseren Plazenten legten wir Wert darauf, daß sie absolut lebensfrisch waren. Dies gilt besonders für die ersten Schwangerschaftsmonate, bei denen ja die Plazenten meist infolge Abortes durch digitale Ausräumung gewonnen wurden. Blutete eine Patientin länger als 24 Stunden, verzichteten wir auf Untersuchung der Plazenta. Der Fötus mußte frisch geboren sein. Zur Charakteristik unserer ausgetesteten Plazenten seien einige Daten angeführt.

Plazenta Nr. 1. Letzte Periode am 15. IX. 1939. Gewinnung der Plazenta am 14. IX. 1939 bei einer Myomoperation. Gesamtgewicht 18 g. Fötlänge 4 cm.

Plazenta Nr. 2. Letzte Periode am 4. XI. 1939. Gewinnung durch Interruptio einer Hyperemesis gravidarum am 24. I. 1940. Gesamtgewicht 25 g.

Plazenta Nr. 3. Letzte Periode am 23. VIII. 1939. Gewinnung durch digitale Ausräumung am 29. XI. 1939. Gesamtgewicht nicht zu bestimmen. Fötlänge 10 cm.

Plazenta Nr. 4. Letzte Periode am 13. X. 1939. Gewinnung durch digitale Ausräumung am 24. I. 1940. Gesamtgewicht 110 g. Fötlänge 14 cm.

Plazenta Nr. 5. Letzte Periode am 25. IX. 1939. Gewinnung durch Interruptio einer Hyperemesis gravidarum am 24. I. 1940. Gesamtgewicht 56 g. Fötlänge nicht zu bestimmen.

Plazenta Nr. 6. Letzte Periode am 15. X. 39. Gewinnung durch digitale Ausräumung mit Blutungsbeginn am 15. II. 1940. Gesamtgewicht nicht zu bestimmen. Fötlänge nicht zu bestimmen.

Plazenta Nr. 7. Letzte Periode am 13. XI. 1939. Gewinnung durch Interruptio wegen Lungen-Tbc. am 28. III. 1940. Gesamtgewicht 87 g. Fötlänge 29 cm.

Plazenta Nr. 8. Letzte Periode am 23. IX. 1939. Gewinnung durch Geburt am 29. IV. 1940. Gesamtgewicht 155 g. Fötlänge 29 cm.

Plazenta Nr. 9. Letzte Periode am 1. XI. 1939. Gewinnung durch digitale Ausräumung am 10. IV. 1940. Gesamtgewicht 130 g. Fötlänge 29 cm.

Plazenta Nr. 10. Letzte Periode am 15. VI. 1939. Gewinnung durch Interruptio wegen vorzeitigem Blasensprung bei Gemini am 1. XII. 1939. Gesamtgewicht nicht bestimmt. Fötlänge 26 und 21 cm.

Plazenta Nr. 11. Letzte Periode am 25. IV. 1939. Gewinnung durch Geburt am 30. XI. 1939. Gesamtgewicht 220 g. Fötlänge 36 cm.

Plazenta Nr. 12. Letzte Periode am 6. VIII. 1939. Gewinnung durch Geburt am 14. III. 1940. Gesamtgewicht 220 g. Fötlänge 43 cm.

Plazenta Nr. 13. Letzte Periode am 20. IV. 1939. Gewinnung durch Geburt am 5. XII. 1939. Gesamtgewicht 300 g. Fötlänge 44 cm.

Plazenta Nr. 14. Letzte Periode am 24. VIII. 1939. Gewinnung durch Geburt am 27. IV. 1940. Gesamtgewicht 285 g. Fötlänge 46 cm.

Plazenta Nr. 15. Letzte Periode am 26. II. 1939. Gewinnung durch Geburt am 2. XI. 1939. Gesamtgewicht 357 g. Fötlänge 50 cm.

Plazenta Nr. 16. Letzte Periode am 21. VII. 1939. Gewinnung durch Geburt am 21. V. 1940. Gesamtgewicht 270 g. Fötlänge 49 cm.

Plazenta Nr. 17. Letzte Periode am 25. II. 1939. Gewinnung durch Geburt am 27. XI. 1939. Gesamtgewicht 504 g. Fötlänge 52 cm.

Plazenta Nr. 18. Letzte Periode am 14. II. 1939. Gewinnung durch Geburt am 17. XI. 1939. Gesamtgewicht 410 g. Fötlänge 49 cm.

Plazenta Nr. 19. Letzte Periode am 8. II. 1939. Gewinnung durch Geburt am 26. I. 1940. Gesamtgewicht 560 g. Fötlänge 54 cm.

Plazenta Nr. 20. Letzte Periode am 8. II. 1939. Gewinnung durch Geburt am 30. XI. 1939. Gesamtgewicht 395 g. Fötlänge 52 cm.

Das Gewicht der Plazenten ist ohne Eihäute und Nabelschnur bestimmt.

Abb. 1 gibt eine Übersicht über das Alter der verarbeiteten Plazenten.

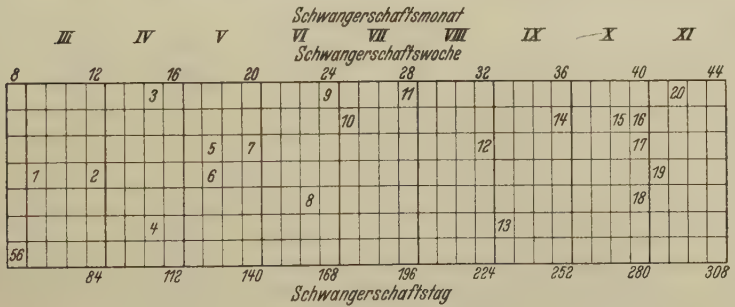


Abb. 1. Alter der untersuchten Plazenten.

Das Ergebnis unserer Untersuchungen zeigt Tabelle 1.

Ein eindrucksvolles Bild erhält man bei der Berechnung des Hormongehaltes auf gleiche Gewichtsmengen Plazentagewebes. Wir taten es für 10 g Plazentagewebe. Der Hormongehalt sinkt in einer steilen Kurve in 10 g Plazentagewebe von 650—700 RE. im 3. Schwangerschaftsmonat auf etwa 40 RE. im 7. Schwangerschaftsmonat und nimmt bis zum Ende des 10. Schwangerschaftsmonats auf etwa 10—15 RE. je 10 g Plazentagewebe ab, das ist $^1/_{60}$—$^1/_{70}$ des Hormongehaltes im 3. Schwangerschaftsmonat (Abb. 2).

Wir erklären uns dies folgendermaßen:

Das gonadotrope Hormon ist (hauptsächlich) in den Epithelzellen der Chorionzotten enthalten. Wie sich nun aus der makroskopischen Betrachtung der Konsistenz der Plazenten und dem histologischen Bild ergibt,

Tabelle 1.

Mens	Frischgewicht Pulvergewicht	Plazenta Nr.	1 RE. entspricht: Plazenta Pulver mg	1 RE. entspricht: frischer Plazenta mg	10 g Plazentagewebe enthalten RE.	Plazentagewicht g	Hormongehalt der Plazenta RE.
III	10:1	1	1,5	15	667	17,7	1181
		2	1,5	15	667	25,0	1668
IV	10:1	3	5,0	50	200	—	—
		4	15,0	150	67	110,0	737
V	9:1	5	8,0	72	139	56,0	778
		6	8,0	72	139	—	—
		7	13,0	117	86	87,0	748
VI	8:1	8	30,0	240	42	155,0	650
		9	40,0	360	29	130,0	377
VII	8:1	10	30,0	240	42	—	—
		11	35,0	280	39	200,0	780
VIII	7:1	12	90,0	630	16	220,0	352
IX	7:1	13	70,0	490	20	300,0	600
		14	80,0	560	18	285,0	513
X	7:1	15	150,0	1050	9,5	357,0	338
		16	150,0	1050	9,5	270,0	270
		17	180,0	1260	8,0	504,0	432
		18	140,0	980	10,0	410,0	410
XI	7:1	19	70,0	490	20	560,0	1120
		20	140,0	980	10	395,0	395

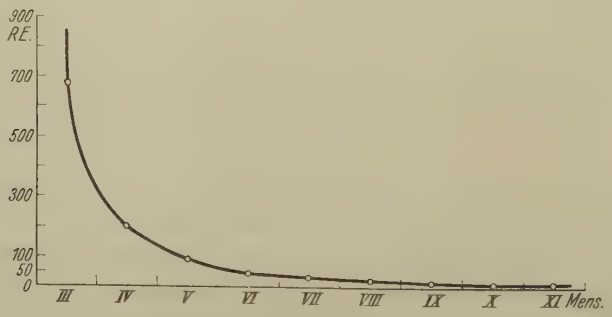


Abb. 2. Gehalt der Plazenta an gonadotropem Hormon auf 10 g Gewebe berechnet.

nimmt das Stromagewebe gegenüber dem Chorionepithel mengenmäßig gewaltig zu. Das Verhältnis beider zueinander verschiebt sich am raschesten im Beginn der Schwangerschaft, also in der Zeit der raschesten Wachstumsvorgänge der Plazenta etwa bis zur Mitte der Schwangerschaft. Im 6. bis 7. Monat hat die Plazenta meist schon $^1/_3$—$^1/_2$ ihres Gewichtes vom Ende der Schwangerschaft erreicht. So ändert sich in der Zeit vom 6.—8. Monat das Verhältnis Stromagewebe : Chorinepithelgewebe in gleichen Gewichtsmengen Plazentagewebe nur mehr langsam. Vom

8. Monat ab läßt sich makroskopisch kaum mehr ein Unterschied in der Konsistenz lebenden Plazentagewebes gegenüber einer reifen Plazenta feststellen, was auch in der Darstellung des Plazentapulvers zum Ausdruck kommt: gleiche Gewichtsmengen Plazentagewebe vom 8. 11. Schwangerschaftsmonat geben gleiche Mengen Plazentapulver.

Im Verhältnis dieser histologischen Verschiebung im Verlauf des Wachstums der Plazenta ändert sich auf gleiche Gewichtsmengen Gewebe, bezogen der Gehalt an gonadotropem Hormon. Daraus ziehen wir den Schluß:

1. Das Chorionepithel hat aktiv mit der Produktion des gonadotropen Hormons etwas zu tun — es ist Bildungsstätte des Hormons.

2. Das rapide Absinken des Hormongehaltes in gleichen Gewichtsmengen Plazentagewebes ist die direkte Folge der Verminderung der Chorionepithelzellen in gleichen Gewichtsmengen Plazentagewebe aus den einzelnen Schwangerschaftsmonaten.

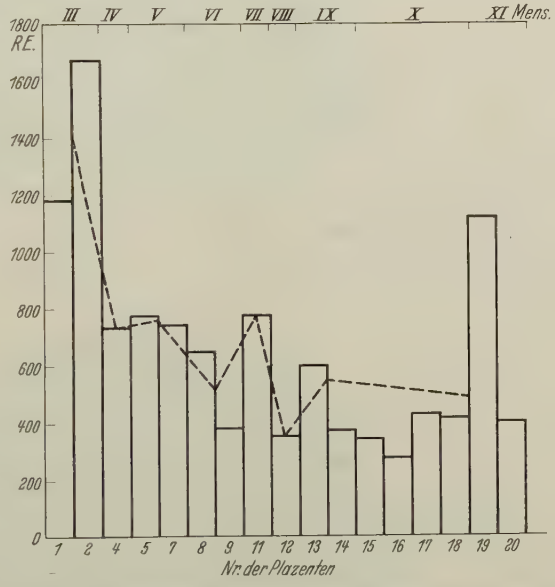


Abb. 3. Gesamtgehalt der untersuchten Plazenten an gonadotropem Hormon. — — — Verbindungslinie der errechneten Mittelwerte in den einzelnen Schwangerschaftsmonaten.

Daß dies nicht die einzige Ursache der Verminderung des Hormongehaltes je Gewichtseinheit Plazentagewebes ist, ergibt sich aus der Berechnung des Hormongehaltes der ganzen Plazenta.

Durch das Wachstum der Plazenta nimmt neben dem Stromagewebe natürlich auch die absolute Menge des Chorionepithelgewebes zu. Damit ist aber keineswegs eine Erhöhung des Gesamthormongehaltes der ganzen Plazenta verbunden. Im Gegenteil:

Er beträgt im 3. Monat etwa 1200—1700 RE. und sinkt bis zum Ende der Schwangerschaft auf etwa 300—400 RE., das ist $^1/_4$ des Wertes vom 3. Monat. Dabei wiegt die Plazenta vom Ende der Schwangerschaft etwa das 15fache der drei Monate alten Plazenta (Abb. 3).

Unter Berücksichtigung bekannter Arbeiten über Hormongehalt in Blutserum und Harn während der Schwangerschaft folgern wir daraus:

Die Intensität der Hormonbildung in der einzelnen Chorionepithelzelle nimmt von Anfang der Schwangerschaft an bis zum Ende der Schwangerschaft ständig ab.

Wir haben den Hormongehalt in 10 g Plazentagewebe vom 3. Schwangerschaftsmonat von 667 RE. und den Gesamthormongehalt von 1425 RE. als 100% festgesetzt und darauf bezogen für die einzelnen Schwangerschaftsmonate folgende Werte in Prozent errechnet (Abb. 4 und 5):

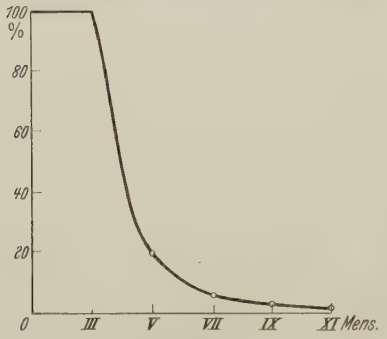


Abb. 4. Gehalt der Plazenta in den einzelnen Schwangerschaftsmonaten an gonadotropem Hormon pro 10 g Gewebe in Prozenten.

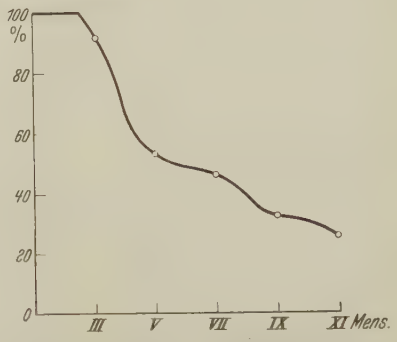


Abb. 5. Gehalt der ganzen Plazenta in den einzelnen Schwangerschaftsmonaten an gonadotropem Hormon in Prozenten.

Tabelle 2.

Mens	Hormongehalt in % je 10 g Plazentagewebe RE.	Hormongehalt in % der vollständigen Plazenta RE.
III	100 % = 667 RE.	100 % = 1425 RE.
IV—V	19,5 %	52 %
VI—VII	6,0 %	46 %
VIII—IX	3,0 %	32 %
X—XI	2,0 %	26—36 %

Zur Kritik unserer errechneten Werte ist zu sagen:

Jeder Wert gibt ein Bild vom Zustand in der Plazenta im Augenblick der Gewinnung. Er darf aber nicht als ein für diese Plazenten konstanter Wert angesehen werden. Gehalt der gleichen Plazenta an gonadotropem Hormon, Hormonbildung und Intensität der Ausschwemmung können vielmehr in kurz aufeinanderfolgenden Zeiten verschieden sein. Wahrscheinlich ist diese Variationsbreite in den ersten 5 Schwangerschaftsmonaten größer als in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft, wie sich aus der Tabelle über den Gehalt in gleichen Gewichtsmengen Plazentagewebe ergibt. Danach ist auch zu verstehen, daß der Serum-Prolangehalt auch bei gesunden Frauen im Liter zwischen 1000—8000 RE. schwankt und bei der gleichen Frau die Harnprolanausscheidung in wenigen Tagen um das Vierfache differieren kann (Taylor und Scadron).

Im einzelnen bemerkenswert sind Plazenta Nr. 2 und Nr. 5. Beide wurden durch Interruptio bei schwersten Fällen von Hyperemesis gravi-

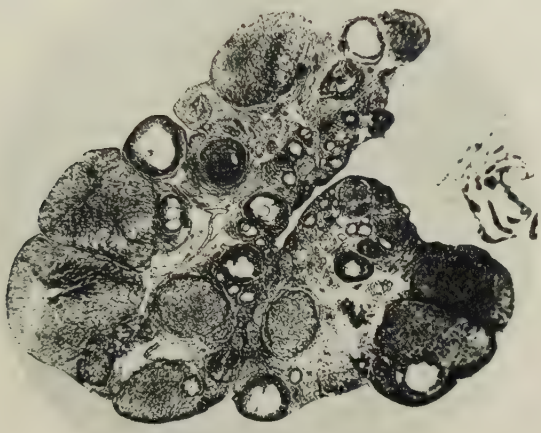


Abb. 6. Ovarium einer mit Plazentapulver vom dritten Schwangerschaftsmonat gespritzten Ratte. (Dos. 5 mg; Vergr. 20fach.)

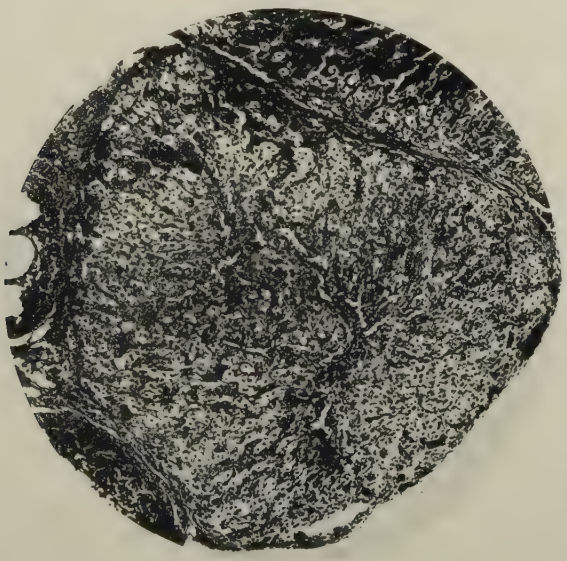


Abb. 7. Wie Abb. 6; Vergr. 40fach.

darum gewonnen, bei Plazenta Nr. 2 kam Patientin trotz Interruptio ad exitum. Der Hormongehalt je Gewichtseinheit Plazentagewebe fällt

in keiner Weise gegenüber den Plazenten normaler Schwangeren aus der Reihe. Dies wird für Plazenten von eklamptischen Schwangeren von Smith und Kennard bestätigt.

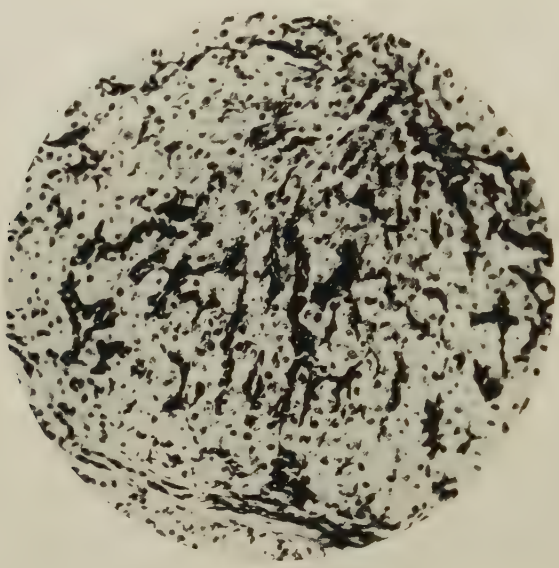


Abb. 8. Wie Abb. 7; Vergr. 200fach.

Abb. 9. Ovarium einer mit Plazentapulver vom zehnten Schwangerschaftsmonat gespritzten Ratte. (Dos. 150 mg; Vergr. 20fach.)

Zu den histologischen Bildern ist zu sagen:

Bei Plazenten vom 3. Monat wurden mit 1,5 mg Plazentapulver 50% positive Ergebnisse erzielt. Dabei sind die Ovarien fast ganz luteini-

siert. Die Corpora lutea sind groß und stark hyperämisiert, die Zellen sind protoplasmareich (Abb. 6—8).

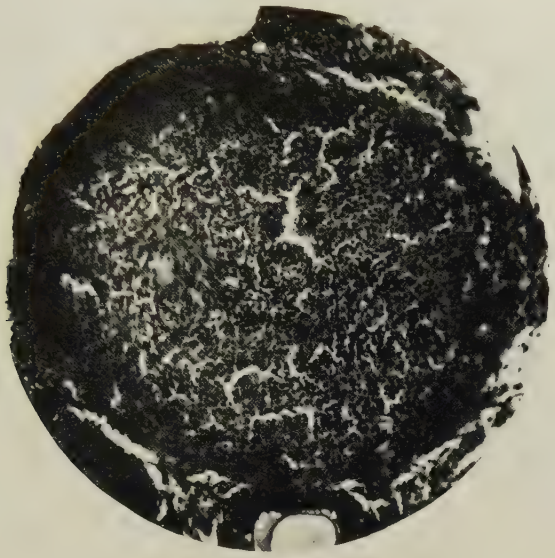


Abb. 10. Wie Abb. 9; Vergr. 40fach.

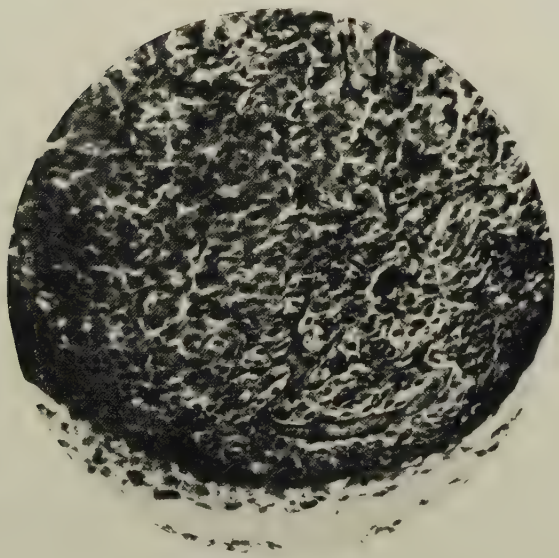


Abb. 11. Wie Abb. 10; Vergr. 200fach.

Bei Plazenten von ausgetragenen Schwangerschaften haben wir im Gegensatz zu anderen Untersuchungen und in Übereinstimmung mit Philipps, Vozza, Kleins ebenfalls immer positive Ergebnisse er-

halten, und zwar von 150 mg Plazentapulver an, was 1,050 g frischem Plazentagewebe entspricht; das ist die 100fache Menge der Plazenta vom 3. Schwangerschaftsmonat. Dabei fanden wir aber immer nur einzelne Corpora lutea in den Ovarien, die Corpora lutea sind nie so stark hyperämisiert, die Luteinzellen nie so protoplasmareich wie in den früheren Schwangerschaftsmonaten (Abb. 9—11). Bei Erhöhung der Dosis auf 180 mg Plazentapulver, das sind 1,260 g Plazentagewebe, erzielten wir auch bei Plazenta Nr. 16 großzellige Corpora lutea. Doch werden so hohe Dosen Plazentapulver von den infantilen Tieren schlecht vertragen.

Zusammenfassung.

Der Hormongehalt an gonadotropem Hormon der Plazenten in den einzelnen Schwangerschaftsmonaten wird untersucht. Er beträgt im 3. Monat 1100—1700 RE. und sinkt bis zum 10. Monat auf 250—400 RE., also auf etwa $^1/_4$ ab. In gleichen Gewichtsmengen Plazentagewebe nimmt der Hormongehalt am Schwangerschaftsende auf etwa $^1/_{60}$—$^1/_{70}$ gegenüber dem 3. Schwangerschaftsmonat ab.

Literatur.

Zondek: Die Hormone des Ovariums und des Hypophysenvorderlappens Wien, Jul. Springer, 1938. — Aschheim: Die Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn. Berlin 1933. — Cushing: The functions of the pituitary body. Amer. J. med. Sc. **1910**, S. 473. — Cerletty: Effects des injections de l'hypophyse sur l'accroisement somatique. Arch. ital. Biol. **47** (1907). — Exner: Implantation von Hypophysen. Zbl. Chir. 1910. — Schaefer: Functions of the pituitary body. Proc. Roy. Soc. London (A) **81** (1909). — Murata u. Adachi: Über die künstliche Erzeugung des Corp. luteum durch Injektion der Plazentarsubstanz aus Schwangerschaftsmonaten. Zbl. Gyn. **54**, 2269 (1930). — Philipp: Hypophysenvorderlappen und Plazenta. Ebenda S. 450; Die hormonale Rolle der Decidua. Ebenda **1936**, S 2706; Hypophysenvorderlappen oder Plazenta? Ebenda **1933**, S. 2237. — Fels: Zur Biologie des Choreonepithelioms. Ebenda **55**, 466 (1931); Bruns Beiträge zur klin. Chirurgie **150**, 349 (1930). — Vozza: La diagnosi biologica ormonale della gravidanza. Ann. Ostetr. **51**, 1889 (1929; Über die Herkunft der sog. Hypophysenvorderlappenhormone in der Schwangerschaft. Z. Geburtsh. **102**, 468 (1932). — Kurzrock, Kirchmann u. Creelmann: Studies relating to the time of human ovulation. Amer. J. Obstetr. **28**, 319 (1934). — Runge u. Clausnitzer: Quantitative Untersuchung über die Ausscheidung von Follikel- und Hypophysenvorderlappenhormon bei Schwangeren mit abgestorbener Frucht sowie im normalen Wochenbett. Zbl. Gyn. **1932**, S. 2450. — Kido: Die menschliche Plazenta als Produktionsstätte des sogenannten Hypophysenvorderlappenhormons. Ebenda **1937**, S. 1551. — v. Arvay: Beiträge zur innersekretorischen Funktion der Plazenta bzw. des Chorions. Endokrin. **14**, S. 309. — Heim: Zur Hormonalanalyse bei der Blasenmole und beim Chorionepitheliom. Med. Klin. **1934**, S. 700. — Schwalm: Chorionepitheliom und Aschheim-Zondek-Reaktion. Zbl. Gyn. **1934**, S. 1212. — MacHarold u. Feorge: A comparison of the Aschheim-Zondek-Reaktion and Friedmann tests in normal and abnormal pregnancy. Amer. J. Obstetr. **1934**, S. 232. — Mazer u. Edeiken: The value of the A.-Z.-Reaktion in the diagnosis and prognosis of Chorionepitheliom. Ebenda **1933**, S. 195. — Eskin: Is prolan formed in the pituitary body or in the placenta? Bull. Biol. et Med. exper. USSR. **1936** (1), S. 176. —Waldstein: Zbl. Gyn. **1929**, S. 21. — Loeser: Die Wir-

kung von Hypophysenvorderlappenpulver auf das Ovarium. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **148**, S. 378; I. Mitteilung: Ebenda **150**; II. Mitteilung: Ebenda **151**. — Taylor u. Scadron: Hormonale Faktoren bei den Schwangerschaftstoxikosen mit besonderer Berücksichtigung der quantitativen Anomalien des Prolan- und Brunsthormongehaltes in Blut und Harn. Amer. J. Obstetr. **37**, 963 (1939). — Smith, G. V. S., u. Kennard: Progestrin and estrin of nineteen placentas from normal and toxemic cases. Proc. Soc. exper. Biol. (Am.) **36**, 508 (1937). Smith, Joslin u. White: Prolan and estrin in the serum and urine of diabetic and non-diabetic women during pregnancy, with special reference to late pregnancy toxemia. Amer. J. Obstetr. **33**, 356 (1937). Siegert: Bedeutung und Herkunft der Schwangerschaftshormone. Dtsch. med. Wschr. **1931**, Nr. 3/4. — Haupt: Chorionepitheliom und Aschheim-Zondek'sche Reaktion. Zbl. Gynäk. **1930**, Nr. 36, S. 2240. — Hirose: Kinki-fujinka-zakkai-Zasshii, 1920 (Zitat nach Murata und Adachi).

Institut für experimentelle Pharmakologie und Therapie der kgl. Universität Pavia.
(Direktor: Prof. P. Mascherpa.)

Wirkung der Cannabis sativa L. Var. indica Lam. auf die Atmung.

Von

P. Mascherpa und **M. Bazzi.**

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Februar 1941.)

Obgleich die Cannabis sativa Var. indica in vielen Pharmacopoen der Welt aufgeführt ist (Argentinien, Belgien, Chile, Frankreich, Japan, England, Italien, Mexiko, Holland, Portugal, Rumänien, Rußland, Spanien, Schweiz usw.), wurde die Droge bis jetzt doch vom Standpunkt der experimentellen Pharmakologie aus sehr wenig untersucht.

Die toxikologischen Studien und chemischen Untersuchungen über ihre wirksamen Bestandteile sind zahlreich; hingegen weiß man noch wenig über die Wirkung des Arzneimittels auf die verschiedenen Organapparate sowie über den Mechanismus dieser Wirkung. All dies und die Tatsache, daß es unter den heutigen Verhältnissen sehr schwer ist, dem Apotheker Cannabis indica von sicherer orientalischer Herkunft zu beschaffen, schränkt die Anwendung der Droge in der Therapie nicht wenig ein.

Bazzi (1) lieferte kürzlich einen Beitrag zu der umstrittenen Frage (2) der Wirksamkeit der außerhalb ihres Ursprungslandes angebauten Cannabis indica (eine Zeitlang hatte man angenommen, daß die so gewonnene Droge ihre ganze biologische Wirkung verlieren würde) und wies nach, daß alkoholische oder acetonische Extrakte aus in der Gegend von Pavia angebauter Cannabis sativa Var. indica pharmakologisch sehr wirksam sind. Bei der Erweiterung und genauen Festlegung der früher von Pollacci und Gallotti (3) ermittelten Daten bediente sich Verfasser der meistgebräuchlichen biologischen Prüfungsmethoden, und zwar der klassischen, auf dem Auftreten der Inkoordination der Bewegungen beim Hund beruhenden Methode, sowie der Gayerschen Methode, die in der Schätzung und Messung der anästhetischen Wirkung der subcutan in Form eines acetonischen Extrakts injizierten Cannabis auf die Cornea des Kaninchens besteht. Bazzi kam zu der Schlußfolgerung, daß der Anbau der Cannabis indica in der lombardischen Tiefebene keine bemerkenswerten Veränderungen in der pharmakologischen Wirkung dieser Droge hinsichtlich der anästhetischen Wirkung auf die Cornea des Kaninchens mit sich bringt, während er hingegen eine Verringerung (etwa um die Hälfte) der pharmakologischen und allgemeinen toxikologischen Wirkung beim Kaninchen und beim Hund hervorruft.

Da wir über reichliches Material für weitere Versuche verfügten, dachten wir über die in Pavia angebaute Cannabis sativa Var. indica einen Beitrag bezüglich der pharmakologischen Wirkung dieser Droge zu liefern; in dieser ersten Mitteilung werden wir uns mit der Wirkung auf die Atmung beschäftigen.

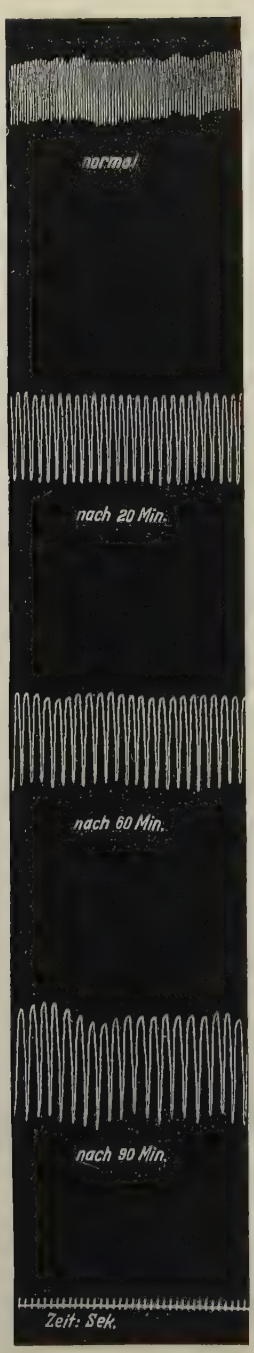
Bis jetzt wurde darüber noch wenig veröffentlicht. Auch in der kürzlich erschienenen Abhandlung von Stringaris (4) ist von einer Wirkung des Haschischs auf die Atmung nicht die Rede. Obwohl die pharmakologische und therapeutische Wirkung von vielen Verfassern mit der des Opiums verglichen wurde, haben nur wenige als besonderen Zug der pharmakologischen Wirkung der Cannabis indica Symptome am Atmungsapparat beschrieben. Roux (5) berichtet bei seinen Versuchen an Hühnern über eine durch alkoholischen Cannabisextrakt hervorgerufene Erschwerung der Atmung. Richet (6) beobachtete bei Hunden und Affen eine Polypnoe; Duquenois (7) bezeichnete die Wirkung auf die bulbären Zentren als erregend in niedrigen und depressiv in hohen Dosen. Gayer (8) beobachtete beim Kaninchen keine Veränderungen der Atmung, Susanna (9) spricht von unregelmäßiger Atmung. In den Handbüchern für Therapie wird häufig die Verwendung der Cannabis indica bei der Behandlung des Hustens und besonders des Keuchhustens erwähnt. In dieser Beziehung verweisen wir auch auf die kürzlich erschienene Arbeit von Bazzi (10). In Anbetracht der vorhandenen geringen Daten hielten wir eine genauere pharmakologische Untersuchung für interessant.

Technik.

Bei der verwendeten Cannabis sativa L. (Var. indica Lam.) handelte es sich um die 1939 durch größeren Anbau in der Gegend der Karthause von Pavia durch Prof. Pollacci erzielte Droge; die Samen stammten von in Pavia und Neapel angebauten Exemplaren. Es wurden bis zu 1,5 m hohe Pflanzen mit weiblichen Blüten erzielt, die pharmakognostisch von denen der spontan wachsenden Cannabis indica nicht verschieden waren.

Aus dem blühenden oberen Teil wurden zwei Extrakte hergestellt: ein Fluidextrakt nach der ersten Methode der italienischen Pharmacopoe (1 ccm = 1 g Droge) und ein acetonischer Extrakt, den man durch Konzentration des Fluidextraktes bei 40° und verringertem Druck, durch Extrahieren des Rückstandes mit sehr reinem Aceton und durch Einstellung dieses acetonischen Extraktes auf ein bekanntes kleines Volumen erzielte.

Der Fluidextrakt wurde oral Hunden in der Dosis von 0,07—0,1 g Droge/kg Körpergewicht sowie intravenös Hunden in der Dosis von 0,03 g Droge/kg Körpergewicht und Kaninchen in der Dosis von 0,5 g Droge/kg Körpergewicht verabreicht. Nachprüfungen ergaben, daß Aceton und Alkohol allein, wenn sie oral oder intravenös in der gleichen Menge wie der in den Extrakten von Cannabis indica enthaltenen verabreicht wurden, keine Wirkung auf die Atmung haben.



Die Aufzeichnung der Atmung erfolgte mit dem Mareyschen oder mit dem Tournadeschen Pneumographen; in weiteren Versuchen wurde der intrathorakale Druck gemessen, indem ein Trokar, der mit einem Wassermanometer und einer Mareyschen Trommel in Verbindung stand, in die Pleurahöhle eingeführt wurde.

Der Blutdruck wurde an der Carotis gemessen. Die Vagotomie nahmen wir am Hals vor. Die Verabreichung von zur Cannabis antagonistischen Mitteln (Lobelin, Beta-phenylisopropylamin) erfolgte auf intravenösem Wege.

Um mögliche Fehlerquellen auszuschalten, wurde die normale Atemkurve sowohl beim Hund als insbesondere auch beim Kaninchen immer erst dann aufgezeichnet, wenn sich das Tier schon 20—25 Minuten auf dem Tisch befand; diese Zeit reicht (graphischen Nachprüfungen zufolge) aus, um die Atmung wieder völlig regelmäßig zu machen.

Alle Untersuchungen erfolgten am wachen Tier.

Versuche.

In den oben angeführten Dosen rief die Cannabis indica sowohl beim Hund als auch beim Kaninchen eine deutliche Bradypnoe hervor; die ziemlich rasch eintritt, lange anhält und deren Stärke und Dauer proportional zur verabreichten Dosis sind (Abb. 1). Die Wirkung ist schon deutlich nach Dosen, die beim Hund noch keine motorische Inkoordination bedingen; beim Kaninchen ist gleichzeitig Anästhesie der Cornea festzustellen.

Nach hohen Dosen kann nicht nur Bradypnoe, sondern auch Dyspnoe mit mehr oder minder langen und häufigen Atempausen auftreten, so daß die Kurve der mit hohen Morphindosen erzielten ähnelt (Abb. 2).

Abb. 1. Kaninchen im Gewicht von 2320 g. Intravenöse Injektion von 0,5 g/kg Körpergewicht in Pavia angebauter Cannabis indica (acetonischer Extrakt).
Die normale Kurve wurde aufgezeichnet, nachdem das Versuchstier sich 30 Minuten auf dem Tisch befunden hatte.

Die beschriebene Wirkung ist nicht nur der in Pavia angebauten Cannabis indica eigen, denn sie wird auch durch die Verwendung von magistraliter hergestellten Zubereitungen des Handels aus Cannabis indischer, amerikanischer und arabischer Provenienz beobachtet. Quantitative Vergleiche konnten wir nicht anstellen, weil die erwähnten Zubereitungen zu alt waren; in Anbetracht der derzeitigen Kriegsverhältnisse konnten wir frische Droge sicherer Herkunft nicht beschaffen.

Bei der genauen Untersuchung des Mechanismus der geschilderten Wirkung stellen wir zunächst fest, daß die durch Cannabis indica hervorgerufene Bradypnoe nicht auf vom Sinus carotideus ausgehenden hämo-

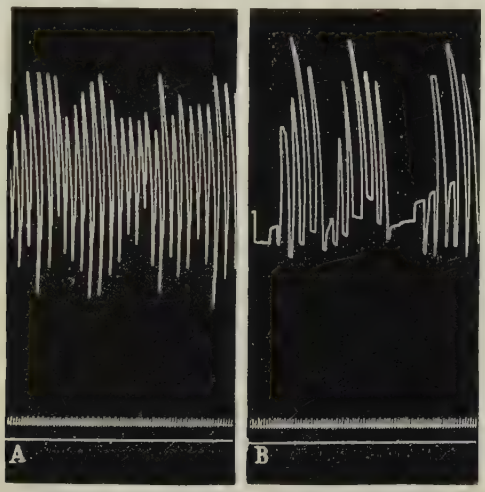


Abb. 2. Hund im Gewicht von 6500 g. Intrapleuraler Druck.
A = normale Atmung. B = Atmung 30 Minuten nach der oralen Verabreichung von 0,075 g/kg Körpergewicht in Pavia angebauter Cannabis indica (alkoholischer Extrakt).

dynamischen Reflexen beruht, weil die Droge wohl eine sehr deutliche Atemwirkung, aber nur äußerst geringe Druckveränderungen hervorruft (Abb. 3).

Durch weitere Versuche konnten wir feststellen, daß die durch Cannabis indica erzielte Bradypnoe nicht durch von den Organen des Brustkorbs ausgehenden Reflexen bedingt wird, denn die Atemwirkung hält auch nach beiderseitiger Vagotomie deutlich an (Abb. 4).

Diese Ergebnisse ließen voraussehen, daß die durch Cannabis indica hervorgerufene Bradypnoe zentraler Natur ist, d. h. auf das Atemzentrum wirkt. Bekanntlich hat die Droge einen Effekt auf das Zentralnervensystem, der sich in bestimmten Dosen auf die bulbären Zentren erstreckt und sie deprimiert. Ein derartiger Wirkungsmechanismus steht also im

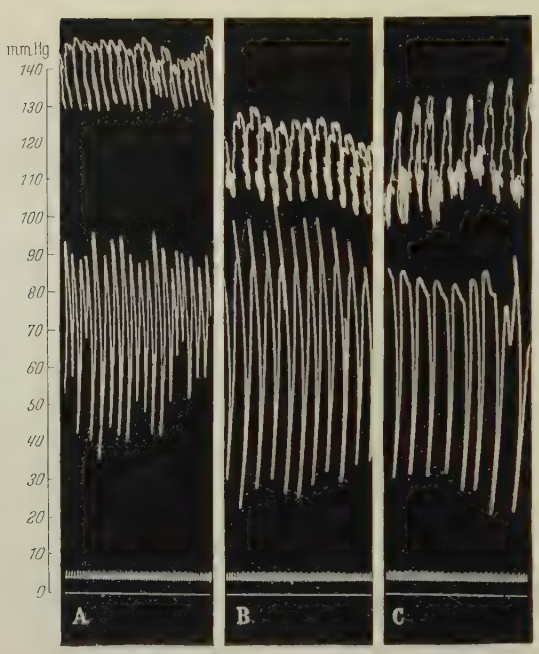


Abb. 3. Hund im Gewicht von 9600 g.
Oben: Arterieller Druck an der Carotis. Unten: Pneumogramm. A = normal. B = 20 Minuten nach oraler Verabreichung von 0,12 g/kg Körpergewicht Cannabis indica (alkoholischer Extrakt). C = nach 35 Minuten.

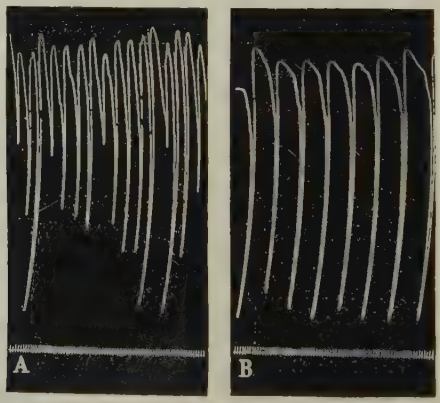


Abb. 4. Hund im Gewicht von 10250 g. — Beiderseitige Vagotomie.
A = normal. B = 30 Minuten nach intravenöser Verabreichung von 0,12 g/kg Körpergewicht Cannabis indica (alkoholischer Extrakt).

Einklang mit der von der Droge ausgeübten allgemeinen pharmakologischen Wirkung.

Um diesen Punkt näher zu untersuchen, studierten wir die antagonistische Wirkung der Cannabis indica und das Atemzentrum erregenden Mittel.

Bei Versuchen mit beim Hund intravenös in der Dosis von 1 mg/kg Körpergewicht injiziertem Lobelin wurde dieser Antagonismus nachgewiesen; da aber der Angriffspunkt des Lobelins nicht völlig geklärt ist, bedienten wir uns des Beta-phenylisopropylamins, das nach neueren Untersuchungen von Chistoni und Beccari (11) eine zentral erregende Wirkung auf die Atmung hat. Bei dem mit Fluidextrakt von Cannabis indica oral behandelten Hund wird die Bradypnoe völlig, wenn auch nur für kurze Zeit,

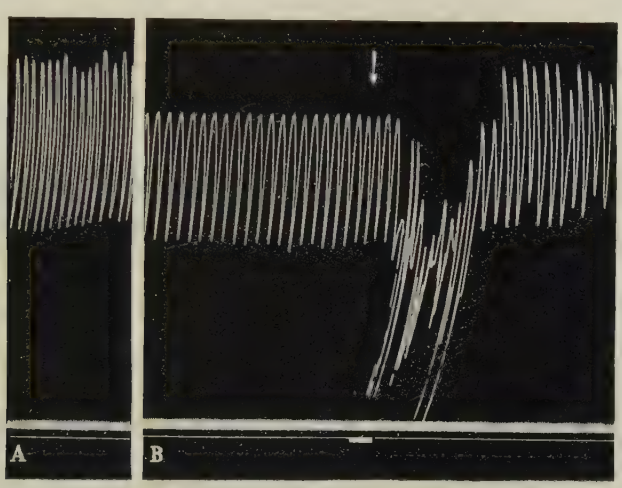


Abb. 5. Hund im Gewicht von 6500 g.
A = normal. B — 40 Minuten nach intravenöser Verabreichung von 0,15 g/kg Körpergewicht Cannabis indica. Beim Pfeil: Intravenöse Injektion von 0,0007 g/kg Körpergewicht Beta-phenylisopropylamin.

beseitigt, wenn Beta-phenylisopropylamin in der Dosis von 0.0007 g/kg Körpergewicht intravenös injiziert wird (Abb. 5).

Schlußfolgerungen.

1. Die in der lombardischen Tiefebene in der Gegend von Pavia angebaute Cannabis sativa L. Var. indica Lam. zeigte eine deutliche anästhetische Wirkung auf die Cornea des Kaninchens, die der durch die Cannabis orientalischer Herkunft hervorgerufenen nicht nachsteht. Sehr deutlich ist beim Kaninchen und beim Hund auch die allgemeine pharmakologische und toxikologische Wirkung.

2. Die Hunden und Kaninchen oral oder intravenös in Form von Fluidextrakt oder acetonischem Extrakt verabreichte Cannabis indica

ruft eine langdauernde Bradypnoe hervor, deren Mechanismus untersucht wurde.

3. Die durch Cannabis indica hervorgerufene Bradypnoe nicht mit Blutdruckveränderungen einhergeht, bleibt sie auch nach beiderseitiger Vagotomie am Hals bestehen, verschwindet hingegen nach entsprechenden Gaben von Lobelin oder Beta-phenylisopropylamin. Es läßt sich daher sagen, daß der Mechanismus dieser Wirkung zentral ist, d. h. daß es sich um einen deprimierenden Effekt auf das bulbäre Atemzentrum handelt, der mit dem allgemeinen pharmakologischen Bild der Droge in Einklang steht.

4. Die festgestellte Wirkung läßt die Verwendung der Cannabis indica zur Hustenstillung als gerechtfertigt erscheinen.

Literatur.

1) Bazzi, M.: Dosaggio biologico della Cannabis indica coltivata nei dintorni di Pavia. Boll. Soc. ital. Biol. sper. **1940** (15), Fasc. 8. — 2) Perrot, E., R. Weitz: Le Chanvre indien. Culture et essai. Bull. Soc. Thér. **1924**, Nr. 6. — 3) Pollacci, G., u. M. Gallotti: Canapa indiana coltivata in Lombardia. Ebenda **1940**, 15, S. 324. — 4) Stringaris, M. G.: Die Haschischsucht. Berlin, Jul. Springer, 1939. — 5) Roux, R.: Étude sur la cannabine. Bull. gén. Thér. **1886** (III), S. 492. — 6) Richet, C.: Zitiert von M. Bazzi. — 7) Duquenois: Zitiert von M. Bazzi. — 8) Gayer, H.: Pharmakologische Wertbestimmung von orientalischem Haschisch und Herba cannabis indicae. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **129**, 312 (1928). — 9) Susanna, V.: Sull'attività biologica della Canapa indiana coltivata nella Stazione sperimentale per le piante officinali annessa al R. Orto Botanico di Napoli. Boll. Orto Bot. della R. U. di Napoli **13**, 83 (1936). — 10) Bazzi, M.: La Cannabis sativa L. var. indica Lam. Quaderni di fitoterapia **1941**. — 11) Chistoni, A., E. Beccari: Ricerche farmacologiche sulla fenilisopropilamina. Arch. ital. Sci. farm. **9**, 1 (1940).

Aus dem Pharmakologischen Institut der „Pázmány Pèter"-Universität zu Budapest.

Die Wirkung von Gefäßmitteln auf den lokalen Stoffwechsel des Muskels.

Von

B. v. Issekutz jr.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 29. Januar 1941.)

Seitdem Rein und Kramer die unter vollkommen physiologischen Verhältnissen vorgenommene genaue Messung der Blutströmung möglich machten, tauchte von neuem die viel umstrittene Frage auf, welcher Zusammenhang wohl zwischen der Blutversorgung des Muskels und seinem Stoffwechsel bestehen mag.

Es ist seit langem bekannt, daß dem Muskel in Tätigkeit viel mehr Blut zugeführt wird, als im Ruhestande. Diese Tatsache haben Rein und Kramer mit ihren modernen Methoden von neuem bestätigt und auch in den Einzelheiten aufs weiteste geklärt. In den letzten Jahren begannen dann Rein und seine Mitarbeiter zu untersuchen, welche Veränderungen im ruhenden Muskel auftreten, wenn die Blutzufuhr mechanisch oder mit Zuhilfenahme des Nervensystems beeinflußt wird.

Rein und Schneider (1) gingen auf die Weise vor, daß sie die Art. femoralis mechanisch verengten und kamen dabei zu dem Resultat, daß in vielen Fällen gleichzeitig mit der Verlangsamung der Strömungsgeschwindigkeit des Blutes die Ausnutzung der durchströmenden Gesamtblutmenge im Verhältnis eine Steigerung erfuhr, so daß der Stoffwechsel der Extremität keine Veränderung erlitt. Öfters wuchs aber die Ausnutzung der Blutmenge nicht im entsprechend notwendigen Verhältnis, d. h. die O_2-Aufnahme der Extremität erschien während der Unterbindung gesenkt. In solchen Fällen trat nach Einstellung der Unterbindung eine reaktive Hyperämie auf, in dem die O_2-Aufnahme der Extremität in demselben Maße eine Steigerung über das Normale erfährt. Im Endresultat kann also festgestellt werden, daß das Unterbinden der Gefäße auch unter diesen Verhältnisesn den lokalen Stoffwechsel nicht beeinflußt.

Dieselben Autoren (2) untersuchten auch die Wirkung des Carotis-Reflexes sowie der CO_2-Atmungszufuhr auf die Blutversorgung und O_2-Aufnahme der Extremität.

Bei Unterbindung des Carotis verengern sich bekannterweise die Gefäße, und wird aus diesem Grunde die Strömungsgeschwindigkeit verlangsamt. Wie Rein und seine Mitarbeiter feststellten, geht diese Herabsetzung der Strömungsgeschwindigkeit im Gegensatz zu der mechani-

schen Unterbindung mit einem Nachlassen der Ausnutzung des Blutes einher, bzw. der Carotisreflex bewirkt Einfallen des lokalen Stoffwechsels. Diese Wirkung ist dem Einfluß des Nervensystems zuzuschreiben, da, wenn z. B. der N. ischiadicus durchschnitten wurde, sich weder die Gefäße verengten, noch der Stoffwechsel eine Veränderung erlitt. Aus dieser Beobachtung schlossen die Autoren, daß gleichzeitig mit der reflektorischen Vasokonstriktion ebenso auf reflektorischem Wege der Stoffwechsel der im Ruhestand befindlichen Gewebe abnimmt, daß während der Gefäßveränderung ein O_2-Mangel nicht auftreten kann und so die reaktive Hyperämie auch ausbleibt.

In einer anderen Arbeit (3) stellten die Autoren auch fest, daß die durch die CO_2-Einatmung verursachte Vasokonstriktion mit einer Verminderung des lokalen Stoffwechsels einhergeht, vorausgesetzt, daß CO_2 in nicht zu großen Konzentrationen eingeatmet wurde. In diesem Falle traten auch die Symptome der Mangeldurchblutung auf, bzw. es meldete sich die reaktive Hyperämie genau so, wie dies bei der mechanischen Unterbindung der Art. femoralis der Fall ist.

Dies ist der Grund, warum, wie dies Rein und Mertens feststellten, die Einatmung von CO_2 imstande ist, die Arbeitsleistung des sich in Tätigkeit befindlichen Muskels sofort herabzusetzen, während bei der mechanischen Unterbindung erst nach 8—10 Sekunden die Muskelarbeit abnimmt und die reaktive Hyperämie (Nachdurchblutung) auch auftritt.

Bei der Untersuchung des Einflusses des Nervensystems beobachteten Rein und Schneider (4) auch, daß nach dem Durchschneiden des Grenzstranges des Sympathicus eine Beschleunigung der Blutströmung in der Extremität auftritt, die Gefäße sich erweitern und in Verbindung damit gleichzeitig auch das Maß der Intensität der Ausnutzung des Blutes zunimmt, mit anderen Worten, der lokale Stoffwechsel erscheint gesteigert. Im Gegensatz zu diesen Erscheinungen verursacht ein auf den Sympathicus ausgeübter Reiz eine Gefäßverengerung und mit dieser einhergehend eine Abnahme des Stoffwechsels der Extremität.

Aus allen diesen Untersuchungsresultaten ziehen Rein und seine Mitarbeiter den Schluß, daß die Veränderungen im lokalen Blutkreislauf und im lokalen Stoffwechsel der Ruhe immer zu gleicher Zeit und parallel zustande kommen, jedoch ist dabei die Veränderung des lokalen Stoffwechsels die primäre.

Über die Wirkung von Medikamenten auf den lokalen Blutkreislauf und den lokalen Stoffwechsel stehen uns weniger Untersuchungen zur Verfügung. Neuestens prüfte Kramer (5) die Wirkung von Adrenalin auf den Blutkreislauf und Stoffwechsel des Gastrocnemius. Er infundierte Adrenalin intraarteriell und war auf diese Weise imstande, ohne Beeinflussung des Blutdruckes mit Hilfe der aufgetretenen Gefäßverengerung die Strömungsgeschwindigkeit des Blutes in beträchtlichem Maße zu verlangsamen. Dabei erschien gleichzeitig der O_2-Gehalt des Venenblutes

außerordentlich verringert, bzw. eine gesteigerte Ausnutzung des Blutes hatte stattgefunden. Diese Ausnutzungssteigerung stand jedoch nicht im Verhältnis zu der hochgradigen Verlangsamung der Strömungsgeschwindigkeit, so daß, wie dies die Berechnungen ergeben, während der Vasokonstriktion der O_2-Verbrauch des Muskels stark verringert ist. Dieses Abfallen des O_2-Verbrauches verschwindet jedoch sofort, sowie die Adrenalinwirkung zu Ende geht. Es tritt dann eine reaktive Hyperämie auf, während gleichzeitig der Muskelstoffwechsel über das Normale steigt. Aus dem Gesagten zieht er dann den Schluß, daß die durch Adrenalin bewirkte Gefäßverengerung mit denselben Resultaten einhergeht als eine mechanische Gefäßunterbindung. Die Zellen führen trotz der Gefäßverengerung ihren Stoffwechsel weiter fort und dadurch entstehen gewissermaßen O_2-Schulden, welche nach dem Abklingen der Gefäßverengerung rasch zurückbezahlt werden.

Schoedel (6) untersuchte die Wirkung von gefäßerweiternden Stoffen (Adenylsäure, Histamin, Azetylcholin) auf die Blutversorgung und Arbeitsleistung des sich in Tätigkeit befindlichen Muskels. Er konnte feststellen, daß diese Stoffe die an und für sich schon gesteigerte Blutversorgung des funktionierenden Muskels noch weiter zu steigern imstande sind, daß dieselben jedoch keinerlei Einfluß auf die Arbeitsleistung ausüben.

Es erschien daher interessant, derartige Untersuchungen auch auf andere Medikamente auszubreiten und auf die Frage Antwort zu suchen, ob mit der Veränderung der Strömungsgeschwindigkeit wohl auch die Ausnutzung des O_2-Gehaltes des Blutes im selben Verhältnis eine Änderung erfährt, oder ob das untersuchte Gefäßgebiet auch neben veränderten Kreislaufverhältnissen das Originalmaß seines Stoffwechsels beibehält?

Es ergibt sich nun aus der Literatur, daß die Verengung der Gefäße im allgemeinen mit der Herabsetzung des lokalen Stoffwechsels einhergeht, und drängt sich die Frage auf, ob, wenn die Gefäße erweitert werden, der lokale Stoffwechsel wohl eine Steigerung erfährt? Eine derartige Wirkung wäre in erster Linie von solchen gefäßerweiternden Stoffen zu erwarten, welche die Blutversorgung der Zellen erhöhen, bzw. welche kapillarerweiternd wirken. Zu meinen Versuchen wendete ich als Gefäßerweiterer ein Barbitursäurederivat, das Dial, des weiteren Nitroglycerin sowie Histamin an.

Methodik.

Ich führte meine Versuche an 10—15 kg schweren Hunden aus. Die Tiere wurden mit Hilfe einer Morphium-Dial-Narkose auf die Weise eingeschläfert, daß ich zuerst 0,002—0,003 g/kg Morphin subcutan und dann 0,03—0,04 g/kg Dial i. p. einspritzte. Der Eingriff konnte dann nach einer halben Stunde begonnen werden.

Der Blutdruck wurde mit einem in der Carotis befestigten Manometer gemessen und an der einen Vena femoralis mit der Thermostromuhr die

die Extremität durchströmende Blutmenge registriert. Aus der Vena femoralis entnahm ich zeitweise mit Hilfe einer mit Heparinlösung durchwaschenen Tuberculinspritze 1 ccm Blut, und bestimmte den O_2-Gehalt mit einem lichtelektrischen Kolorimeter (7). Da zu einer Bestimmung 0,4 ccm Blut notwendig sind, konnten in jedem Falle aus einer einmaligen Blutentnahme zwei Bestimmungen ausgeführt werden. Zeitweise stellte ich auch den O_2-Gehalt des Arterienblutes fest, indem ich die Blutentnahme aus einer in der Carotis befestigten Kanüle, natürlich neben vollkommenem Luftabschluß, vornahm. Auch hier geschah die Bestimmung stets mit Zuhilfenahme von Parallelen. Aus der arterio-venösen Differenz und der die Vena femoralis durchströmenden Blutmenge errechnete ich dann den O_2-Verbrauch der Extremität.

Um zu verhindern, daß der O_2-Gehalt des Arterienblutes während des Versuchs eine Veränderung erleide, leitete ich künstliche Atmung ein.

Außerdem stellte ich, wenn es die Notwendigkeit erheischte, auch den Gesamt-O_2-Verbrauch des Tieres fest.

Die ausgeatmete Luft wurde zu diesem Zwecke über ein mit Natronkalk gefülltes Gefäß in die Pumpe und von dieser in das Tier zurückgeleitet. In diesen Hauptstromkreis war auch ein Nebenstromkreis mit einem Krogh-Apparat eingeschaltet, welcher den O_2-Verbrauch anzeigte. Wenn in diesem Krogh-Apparat das Oxygen verbraucht war, schloß der herabgesunkene Platindraht bei Berührung des mit Quecksilber gefüllten Gefäßes einen elektrischen Stromkreis, welcher einen Oxygendosierer zum Funktionieren brachte und mit einer bestimmten Menge O_2 den Krogh-Apparat von neuem nachfüllte, während zu gleicher Zeit ein automatischer Zählapparat die Zahl der Einschaltungen registrierte.

Die Wirkung von Dial auf den Blutkreislauf und Oxygenverbrauch der hinteren Extremität des Hundes.

In erster Reihe untersuchte ich, in welcher Weise ein die Gefäße erweiterndes Barbitursäurederivat, die Diallylbarbitursäure, den Blutkreislauf und O_2-Verbrauch der Extremität beeinflußt.

Ich ging in der Weise vor, daß ich in langsamem Tempo des öfteren eine 5%ige Diallösung in die Vena jugularis einspritzte, so daß während einer gewissen Zeit — sagen wir — während einer Stunde die Tiere insgesamt 70—100 mg/kg Dial bekamen. Derartige Dosen bewirken schon eine beträchtliche Senkung des Blutdruckes. Wie Abb. 1 zeigt, kann diese Senkung sogar 60 mm Hg ausmachen (von 110 ccm Hg auf 50 ccm Hg), und bleibt dann der Blutdruck längere Zeit auf diesem gesenkten Niveau stehen. Gleichzeitig erscheint die Strömungsgeschwindigkeit des Blutes in der Vena femoralis beschleunigt und stellt sich auf ein höheres Niveau ein. Während am Anfang 37 ccm/Min. durch die Vene strömte, stieg dann die Strömungsbeschleunigung auf 47 ccm/Min.

Dieser Zustand, d. i. niedriger Blutdruck neben beschleunigter Strömungsgeschwindigkeit, blieb nunmehr für längere Zeit — öfters 1 Stunde lang — bestehen.

Diesen mit der Blutdrucksenkung gleichzeitig auftretenden Strömungsbeschleunigungen liegt offensichtlich die Tatsache zugrunde, daß die Gefäße durch die Dialwirkung erweitert werden, und durch diese erweiterten Gefäße trotz des gesenkten Druckes eine größere Menge Blut durchströmen kann.

Bei der Untersuchung der arterio-venösen O_2-Differenz ergab sich das überraschende Resultat, daß diese auf die Dialwirkung hin in Verbindung mit der Strömungsbeschleunigung, wie man dies hätte annehmen sollen, nicht nur kleiner wurde, sondern stieg (von 11,4 auf 23,2). Mit anderen Worten: Die Zellen verbrauchten trotz der beschleunigten Strömung das Blut in größerem Maße als vor der Dialapplikation.

Aus den gefundenen Daten den O_2-Verbrauch der Extremität errechnet, fand sich derselbe in großem Maße gesteigert (108 %). Der Gesamt-O_2-Verbrauch des Tieres erfährt durch die Dialwirkung kaum eine Änderung, und wenn dies der Fall ist, so tritt, wie aus Tabelle 1 ersichtlich, eine Senkung von 15—20 % ein. Es kann daher nicht an-

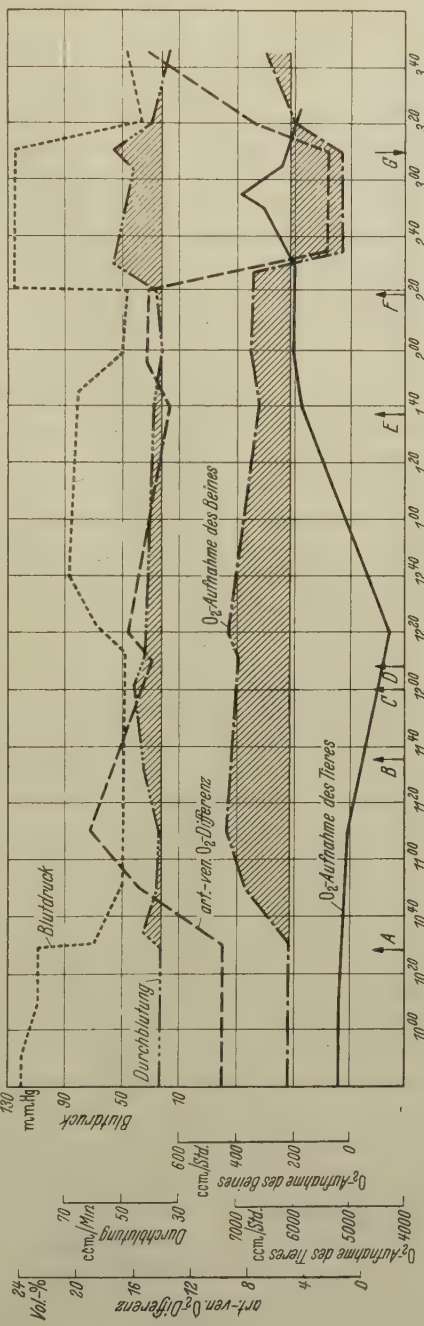


Abb. 1. 3. V. 1940. Hunde, 14 kg. Morphin-Dial-Narkose (0,03 g Morphin s. c. + 0,03 g/kg Dial i. v.). Bei *A* 46,5 mg/kg Dial i. v., bei *B*, *C* und *D* 50 mg/kg Dial i. v., bei *E* 17,5 mg/kg Dial i. v., von *F* bis *G* 1 : 50000 Adrenalin infundiert.

genommen werden, daß die Ursache der Steigerung des O_2-Verbrauches der Extremität darin zu suchen wäre, daß Dial direkt imstande sein könnte, den Stoffwechsel der Muskelzellen zu steigern, und bietet für diese Annahme auch die Literatur keinerlei Anhaltspunkt.

Die Steigerung des O_2-Verbrauches der Extremität kann daher eher mit der gefäßerweiternden Wirkung des Dials erklärt werden. Aus den Untersuchungen von Krogh (8) wissen wir, daß im ruhenden Muskel nur ein Teil der Kapillaren geöffnet ist, während der größte Teil derselben nicht funktioniert, mit einem Worte, geschlossen ist. Jene Muskelzellen, welche neben diesen geschlossenen Kapillaren liegen, können entweder überhaupt kein O_2, oder dieses nur aus den ferner gelegenen offenen Kapillaren durch Diffusion erhalten.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Dialwirkung die Kapillaren erweitert, die bis dahin geschlossen gewesenen sich auch öffnen und auf diese Weise eine größere Anzahl von Muskelzellen in direkten Kontakt mit dem Blut und dem Oxygen kommen. Es werden also mehr Muskelzellen atmen und O_2 verbrauchen.

Von einem anderen Barbitursäurederivat, dem Veronal (9), ist schon seit langem festgestellt worden, daß es die Kapillaren erweitert.

So wird es verständlich, daß durch die Dialwirkung gleichzeitig mit der Strömungsgeschwindigkeit des Blutes auch die arterio-venöse Differenz wächst, die Ausnutzung des Blutes intensiver wird, mit anderen Worten: der Stoffwechsel der Extremität erscheint gesteigert.

Die Resultate der mit Dial ausgeführten Versuche sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Aus diesen geht hervor, daß die Stoffwechselsteigerung der Extremität sehr verschieden ist, teilweise 100 % übersteigt, in anderen Fällen jedoch sich nur um 40—60 % herum bewegt. Allgemein genommen, steigert Dial den O_2-Verbrauch dort, wo von Anfang an der Stoffwechsel niedrig ist, in viel stärkerem Maße als in den Fällen, wo dieser schon vor der Dialverabreichung hoch war. Im letzten Versuch steigerte sich auf Dial der Stoffwechsel der Extremität nicht. Es ist jedoch auffallend, daß bei diesem Versuch die Strömungsgeschwindigkeit des Blutes schon von Anfang an höher war wie bei den übrigen Versuchen, so daß anzunehmen ist, daß die Gefäße ab ovo erweitert waren. Bei diesem Versuch sinkt, durch die Dialwirkung bedingt, gleichzeitig mit der Blutdrucksenkung auch die Strömungsgeschwindigkeit. Offensichtlich hat hier Dial die Kapillaren nicht erweitert, und kann unter diesen Umständen eine Steigerung des O_2-Verbrauches der Extremität nicht erwartet werden.

Konkludierend kann gesagt werden, daß Dial den O_2-Verbrauch der Extremität steigert. Diese Wirkung kommt dadurch zustande, daß sich viele bis dahin geschlossene Kapillaren öffnen und so mehr Muskelzellen mit dem O_2 in Berührung kommen. Diese Wirkung ist um so ausgesprochener, je kleiner neben je höherem Blutdruck die Menge des durchströmenden Blutes war, je enger also die Gefäße und je weniger Kapillaren

Tabelle 1. Die Wirkung des Dial auf die Durchblutung und Sauerstoffaufnahme des Muskels.

Daten, Tiergewicht	Blutdruck in mm Hg vor / nach Dial	Die Veränderungen des Blutdruckes in mm Hg	Durchblutung in V. femor. in ccm/Min. v. / n. Dial	Die Veränderungen der Durchblutung in V. femor. in ccm/Min.	Art.-venöse O_2-Differenz in % v. / n. Dial	Die Veränderungen der art.-venösen Differenzen in % O_2	Sauerstoffaufnahme des Muskels in ccm/Std. v. / n. Dial	Die Veränderungen der Sauerstoffaufnahme des Muskels in %	Die Veränderungen der Gesamtsauerstoffaufnahme in %	Bemerkungen
15. IV.	120	— 50	35	+ 25	6,7	+ 6,0	130	+ 177	—	25 mg/kg Dial i. v.; 35 Min.,
20 kg	70		60		12,7		460			später 40 mg/kg i. v.; 65 Min., später 45 mg/kg i. v.
29. IV.	80	— 30	31	+ 39	12,4	— 3,6	225	+ 75	— 17	28 mg/kg Dial i. v.; 77 Min.,
12 kg	50		70		8,8		395			später 62,5 mg/kg i. v.
3. V.	110	— 60	37	+ 1	10,0	+ 9,4	220	+ 100	— 18	46,5 mg/kg Dial i. v.; 70 Min.,
14 kg	50		38		19,4		440			später 50 mg/kg i. v.
6. V.	50	— 10	26	+ 24	11,2	+ 0,4	200	+ 63	— 16	71 mg/kg Dial i. v.
10,5 kg	40		50		11,6		325			
9. V.	140	— 30	30	+ 4	10,0	+ 4,5	220	+ 36	—	80,6 mg/kg Dial i. v.
18 kg	110		34		14,5		300			
22. V.	100	— 30	50	— 20	9,1	+ 2,6	260	— 8	—	90 mg/kg Dial i. v.
18 kg	70		30		11,7		240			

Tabelle 2. Die Wirkung des Nitroglycerins auf die Durchblutung und Sauerstoffaufnahme des Muskels.

Daten, Tiergewicht	Blutdruck in mm Hg vor / nach Nitroglyc.	Die Veränderungen des Blutdruckes in mm Hg	Durchblutung in V. femor. in ccm/Min. v. / n. Nitroglyc.	Die Veränderungen der Durchblutung in V. femor. in ccm/Min.	Art.-venös. Differenz in % v. / n. Nitroglyc.	Die Veränderungen der art.-venösen Differenzen in % O_2	Sauerstoffaufnahme des Muskels in ccm/Std. v. / n. Nitroglyc.	Die Veränderungen der Sauerstoffaufnahme des Muskels in %	Die Veränderungen der Gesamtsauerstoffaufnahme in %	Bemerkungen
22. V.	140	— 40	80	— 30	5,8	+ 3,4	260	+ 34	—	2 × 0,05 mg/kg Nitroglycerin
18 kg	100		50		9,2		348			i. v.
21. VI.	140	— 50	62	— 14	5,7	+ 5	213	+ 47	+ 88	0,07 mg/kg Nitroglycerin i. v.
13 kg	90		48		10,7		318			
27. VI.	120	— 40	56	+ 7	12	+ 3	390	+ 45	+ 17	0,1 mg/kg Nitroglycerin i. v.
10 kg	80		63		15		566			
1. VII.	150	— 50	50	+ 12	7,8	+ 4,7	216	+ 84	+ 45	0,088 mg/kg Nitroglycerin i. v.
12 kg	100		62		12,5		388			
1. VII.	130	— 70	60	— 10	5	+ 8,7	156	+ 166	+ 27	0,05 mg/kg Nitroglycerin i. v.
12 kg	60		50		13,7		416			

geöffnet waren. Eine erhöhte Wirkung kann weiter beobachtet werden, wenn Dial wiederholt in mehreren kleineren Dosen verabreicht wird und die Erweiterung der Kapillaren auf diese Weise hervorgerufen wurde, da bei auf einmal angewandten Dosen die Zellenatmung hemmende Wirkung der Barbitursäure in den Vordergrund treten könnte.

Die Wirkung von Nitroglycerin auf den Blutkreislauf und O_2-Verbrauch der Extremität des Hundes.

Wenn es wahr ist, daß Dial durch das Eröffnen neuer, bis dahin geschlossener Kapillaren den Oxygenverbrauch der Extremität steigert, sollte wohl diese Wirkung auch mit anderen gefäßerweiternden Mitteln

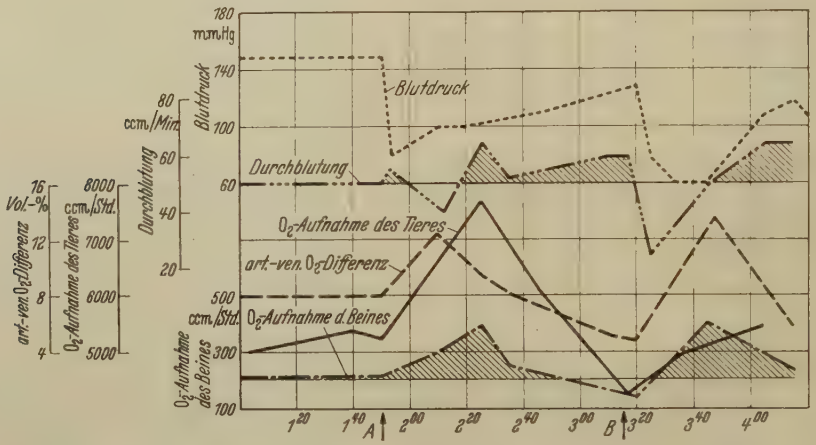


Abb. 2. 1. VII. 1940. Hunde, 12 kg. Morphin-Dial-Narkose. Bei *A* 0,088 mg/kg Nitroglycerin i. v. Bei *B* 0,05 mg/kg Nitroglycerin i. v.

erreicht werden können. In dieser Erwägung setzte ich im folgenden mit einem in eine ganz andere Verbindungsgruppe gehörigen, jedoch auch gefäßerweiterndem Pharmakon, dem Nitroglycerin, meine Versuche fort.

Das Nitroglycerin spritzte ich in 0,02%iger alkoholisch-wässeriger Lösung langsam in die Vena jugularis. Abb. 2 zeigt die Wirkung von zwei nacheinander verabfolgten Dosen von 0,088 mg/kg bzw. 0,05 mg/kg Nitroglycerin. Der Blutdruck sinkt stark — von 150 mm Hg auf 100 mm Hg. Trotzdem steigt die Strömungsgeschwindigkeit in der Vena femoralis von 50 ccm auf 60 ccm. Demgemäß sind die Blutgefäße der Extremität in großem Maße erweitert worden. Gleichzeitig mit der Beschleunigung der Blutströmung erfuhr die Ausnutzung des Blutes keine Veränderung, ja im Gegenteil, dieselbe erscheint, wie wir dies auch bei Dial sahen, gesteigert, während sich die arterio-venöse Differenz von 7,8 auf 12,5% bzw. nach der zweiten Injektion von 5 auf 13,7% erhöht hat. Diese Resultate lassen darauf schließen, daß die Ursache der Strömungsbeschleuni-

gung in der Erweiterung der Kapillaren und der Eröffnung neuer Kapillaren zu suchen ist, durch welchen Vorgang wieder mehr Muskelzellen Blut bzw. O_2 zugeführt erhalten (Abb. 2).

Dies geht dann mit dem Resultate einher, daß der O_2-Verbrauch der Extremität gesteigert ist, und machte diese Steigerung nach der ersten Injektion 84 % und der nach dem Abklingen der Wirkung verabreichten zweiten Dose 166 % aus.

Die Resultate sind in Tabelle 2 veranschaulicht. Es geht aus diesen hervor, daß durch die Nitroglycerinwirkung, genau so wie wir dies bei Dial sahen, der Oxygenverbrauch der Extremität des Hundes erheblich wächst. Dem Dial gegenüber sind jedoch gewisse Unterschiede bemerkbar. In erster Reihe ist es auffallend, daß durch Nitroglycerin gleichzeitig mit der Senkung des Blutdruckes auch oft eine Verlangsamung der Blutströmungsgeschwindigkeit eintritt. Daß aber auch in diesen Fällen eine Gefäßerweiterung stattfand, wird durch die unverhältnismäßig gesteigerte Ausnutzung des Blutes bewiesen, so daß im Endresultat der Oxygenverbrauch der Extremität auch in diesen Fällen erhöht ist. Ein weiterer Unterschied besteht darin, daß die Nitroglycerinwirkung nicht so anhaltend ist, wie dies bei Dial der Fall ist. Nach 20—30 Minuten hört die Wirkung auf, und der Blutdruck, die Strömungsgeschwindigkeit des Blutes, sowie die arterio-venöse Differenz gehen auf das Originalniveau zurück. Die dritte Differenz besteht darin, daß durch Nitroglycerin auch der Gesamtoxygenverbrauch des Tieres gesteigert wird, eine Eigenschaft, welche ich bei Dial nie beobachten konnte. Diese Steigerung des Stoffwechsels geht jedoch nicht parallel mit dem Wachsen des O_2-Verbrauches der Extremität einher.

Das über Nitroglycerin Gesagte zusammenfassend, müssen wir feststellen, daß sich auch bei diesem Präparate neue Kapillaren öffnen, welche dann ein stärkeres Ausnutzen des Blutes und mit diesem einhergehend die Steigerung des O_2-Verbrauches der Extremität herbeiführen.

Die Wirkung von Histamin auf den Blutkreislauf und O_2-Verbrauch der Extremität des Hundes.

Als nächstes führte ich mit einem Pharmakon Untersuchungen aus, von welchem seit langem, noch aus den Untersuchungen von Dale (10) und Rühl (11) bekannt ist, daß dieses die Kapillaren lockert und die Erweiterung derselben hervorruft. Es ist dies das Histamin, von welchem neuestens Mateef und Schneider (12) auf Grund ihrer mit der Thermostromuhr ausgeführten Versuche feststellten, daß es nicht nur die in Funktion befindlichen Kapillaren erweitert, sondern imstande ist, auch geschlossene und nicht funktionierende zum Öffnen zu bringen und in Betrieb zu setzen. Diese Autoren stellten ihre Versuche in der Weise an, daß sie in der zur Muskulatur führenden Arterie und Vene neben gleichzeitiger

Unterbindung der zur Haut führenden Gefäße zu ein und derselben Zeit die Stromgeschwindigkeit des Blutes Messungen unterzogen. Die Versuche ergaben das Resultat, daß durch Histamin zuerst in der Arterie die Strömung beschleunigt wird, während gleichzeitig in der Vene die Geschwindigkeit der Abströmung eine Verlangsamung erfährt, mit anderen Worten: das Volumen der Extremität wächst vorübergehend, und schlossen diese Autoren aus diesem Vorgang, daß sich hier neue Kapillaren eröffnet hatten.

Um die starke blutdrucksenkende und herzlähmende Wirkung des Histamins so weit als möglich zu eliminieren, ging ich auf die Weise vor, daß ich eine auf Körpertemperatur erwärmte Histaminlösung (1 : 10000) intraarteriell über eine in die Art. genu suprema eingeführte Kanüle mit Hilfe des Trendelenburg-Apparates infundierte. Die Einströmungsgeschwindigkeit war 1 ccm pro Minute. Auf diese Weise gelangte das

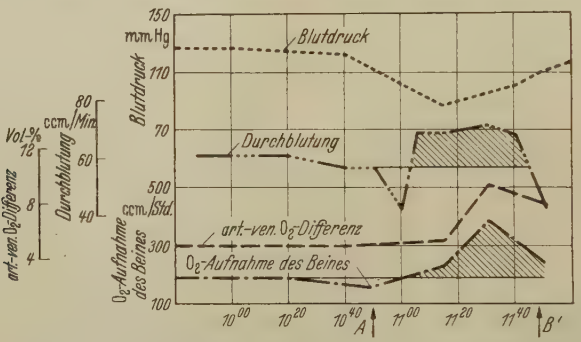


Abb. 3. 21. VI. 1940. Hunde, 13 kg. Morphin-Dial-Narkose. Von *A* bis *B* 1 : 50000 Histaminchlorhydrat i. a. infundiert. 20 γ/min. = 1 ccm/min.

Histamin direkt in das untersuchte Gefäßgebiet, und erst von dort in den allgemeinen Blutkreislauf. 10—15 Minuten nach der Einleitung der Infusion, als sowohl in bezug auf die Strömungsgeschwindigkeit des Blutes als auch die Ausnutzung des Blutes betreffend das Gleichgewicht wieder hergestellt war, geschah die erste Blutentnahme aus der Vena femoralis.

Die Histaminwirkung ist in Abb. 3 sehr gut veranschaulicht. Der Blutdruck sinkt von 130 mm Hg auf 90 mm Hg, während zu gleicher Zeit die Blutströmungsgeschwindigkeit von 58 kcm/Min. auf 72 kcm/Min. steigt. Die Gefäße haben also eine hochgradige Erweiterung erfahren. Gleichzeitig mit dieser Gefäßerweiterung erscheint auch die arterio-venöse Oxygendifferenz gesteigert: von 4,9 auf 9,4 %. Aus diesen Daten errechnet ergibt sich das Resultat, daß der Oxygenverbrauch der Extremität um 133 % höher war, als vor der Histamininfusion. Auch hier muß daher der Schluß gezogen werden, daß das Eröffnen neuer Kapillaren mehr Muskelzellen dem O_2 zugänglich macht, und findet die Steigerung der Oxygenaufnahme der Extremität durch diesen Vorgang ihre Erklärung.

Nach Abbruch der Infusion kehrt der normale Zustand wieder zurück, der Blutdruck steigt, die Strömungsgeschwindigkeit geht rasch auf das normale Niveau zurück und gleichzeitig mit diesen Erscheinungen sinkt auch die arterio-venöse Differenz, die Oxygenaufnahme der Extremität fällt also auch auf das normale Niveau, die geöffneten Kapillaren schließen sich demgemäß aufs neue. Die Resultate werden in Tabelle 3 veranschaulicht. Aus denselben geht hervor, daß in allen Versuchen die O_2-Aufnahme der Extremität erheblich gesteigert war, und daß diese Steigerung durch den Umstand zustande kommt, daß mit der Beschleunigung der Blutströmung die Ausnutzung des Blutes nicht geringer wird, ja im Gegenteil auch gesteigert erscheint.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß sowohl die Dialals auch die Nitroglycerin- und Histaminwirkung mit ein und demselben Resultate einherging, d. i. daß der Oxygenverbrauch der Extremität gesteigert erscheint. Die drei Verbindungen ganz abweichender chemischer Beschaffenheit haben nur eine Eigenschaft gemeinsam: d. i. die auf die Kapillaren ausgeübte Wirkung. Die Annahme erscheint daher berechtigt, daß diese Wirkung die Steigerung des Oxygenverbrauches verursacht, mit anderen Worten, daß das Erweitern der Kapillaren und die Inbetriebsetzung neuer Kapillaren zu einer Steigerung des Oxygenverbrauches führt.

Die Wirkung des Dinitrophenols auf den Blutkreislauf und Oxygenverbrauch der Extremität.

Wie wir sahen, kann die Erweiterung bzw. das Eröffnen neuer, bisher geschlossen gewesener Kapillaren eine Steigerung der O_2-Aufnahme der Extremität hervorrufen. Wie aus den Untersuchungen von Rein und Krogh bekannt ist, geht die Steigerung des Stoffwechsels im tätigen Muskel in jedem Falle mit einer Erweiterung der Kapillaren und dem Eröffnen bisher geschlossener einher. Es erschien nunmehr interessant, auch zu untersuchen, ob denn eine Steigerung der Zellenatmung und des Stoffwechsels auch im ruhenden Muskel das Öffnen von geschlossenen Kapillaren hervorruft? Es drängte sich also die Frage auf, ob, wenn ich den Oxygenbedarf der Muskulatur steigere, diese Steigerung nur dadurch zustande kommt, daß die Ausnutzung des die Extremität durchströmenden Blutes gesteigert wird, oder ob zu gleicher Zeit auch die Menge dieses Blutes eine Steigerung erfährt?

Zu diesem Zwecke habe ich im folgenden die Wirkung eines die Zellenatmung in direkter Weise steigernden Stoffes, des Dinitrophenols, untersucht.

Abb. 4 veranschaulicht die Wirkung von 5 mg/kg subcutan verabreichtem Dinitrophenol. Der Blutdruck erfährt kaum eine Veränderung, die Blutströmungsgeschwindigkeit beginnt hingegen langsam zu steigen, und ist 2 Stunden nach der Injektion von der Normalstärke von 76 kcm/Min.

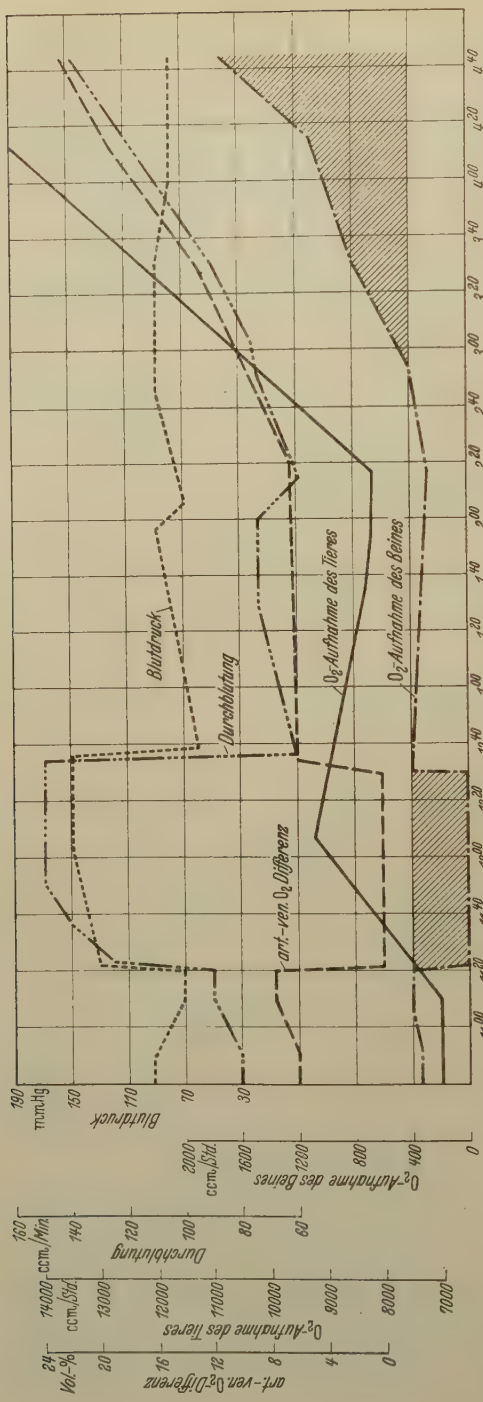


Abb. 4. 16. V. 1940. Hunde, 11,5 kg. Morphin-Dial-Narkose. Von *A* bis *B* 1 : 50000 Adrenalin infundiert 3 γ/min/kg i. v. Bei *C* 5 mg/kg Dinitrophenol s. c.

fast auf das Doppelte, auf 140 kcm/Min. gestiegen. Die Gefäße der Extremität haben sich also außerordentlich erweitert. Mit der starken Steigerung der Blutströmung wächst gleichzeitig auch die Ausnutzung des Blutes bedeutend, während die arterio-venöse Differenz von 6,6 auf 20,7 % ansteigt. Diesen Daten gemäß muß auch der Oxygenverbrauch als äußerst gestiegen angesehen werden. Der Stoffwechsel der Extremität ist auf das 4,5fache des Normalen hinaufgegangen und hat sich die Oxygenaufnahme des ganzen Tieres im Verhältnis auf das 4fache des Originalzustandes erhöht. Wie ersichtlich, ruft eine Steigerung der Zellatmung im ruhenden Muskel nicht nur eine bessere Ausnutzung des Blutes seitens der Zellen hervor, sondern wird auch bewirkt, daß sich bis dahin geschlossene Kapillaren öffnen, auf diese Weise mehr Zellen dem Oxygen zugänglich werden und dadurch imstande sind, dem gesteigerten Oxygenbedarf gerecht zu werden.

Tabelle 3. Die Wirkung des Histamins auf die Durchblutung und Sauerstoffaufnahme des Muskels.

Daten Tiergewicht	Blutdruck in mm Hg vor / nach Histamin	Die Veränderungen des Blutdruckes in mm Hg	Durchblutung in V. femor. in ccm/Min. v. n. Histamin	Die Veränderungen der Durchblutung in V. femor. in ccm/Min.	Art.-venöse Differenz in % v. n. Histamin	Die Veränderungen der Art.-venösen Differenzen in % O_2	Sauerstoffaufnahme des Muskels in ccm/Std. v. n. Histamin	Die Veränderungen der Sauerstoffaufnahme des Muskels in %	Die Veränderungen der Gesamtsauerstoffaufnahme in %	Bemerkungen
21. VI.	130	− 40	58	+ 14	4,9	+ 4,5	170	+ 133	—	1 : 50,000 Histamin i. a. inf. 20 pro kg pro Min., insgesamt 1,116 mg.
13 kg	90		72		9,4		396			
27. VI.	110	− 30	100	+ 24	2,0	+ 0,8	130	+ 96	15	1 : 50,000 Histamin i. a. inf.
16 kg	80		124		2,8		254			
1. VII.	120	− 40	50	+ 30	4,0	+ 0,2	120	+ 80	+ 19	1 : 50,000 Histamin i. a. inf., insgesamt 1,15 mg/kg während 34 Min.
12 kg	80		80		4,2		216			

Tabelle 4. Die Wirkung des Adrenalins auf die Durchblutung und Sauerstoffaufnahme des Muskels.

Daten Tiergewicht	Blutdruck in mm Hg vor / nach Adrenalin	Die Veränderungen des Blutdruckes in mm Hg	Durchblutung in V. femor. in ccm/Min. v. n. Adrenalin	Die Veränderungen der Durchblutung in V. femor. in ccm/Min.	Art.-venöse Differenz in % v. n. Adrenalin	Die Veränderungen der Art.-venösen Differenzen in % O_2	Sauerstoffaufnahme des Muskels in ccm/Std. v. n. Adrenalin	Die Veränderungen der Sauerstoffaufnahme des Muskels in %	Die Veränderungen der Gesamtsauerstoffaufnahme in %	Bemerkungen
15. IV.	60	+ 75	60	+ 40	12,5	− 9,5	460	− 61	—	1 : 50,000 Adrenalin inf. Vor dem inf. die Kapillaren mit Dial erweitert.
20 kg	140		100		3,0		180			
18. IV.	60	+ 50	15	+ 23	12,8	− 8,0	120	− 8	− 2,5	1 : 50,000 Adrenalin inf.
12,4 kg	110		38		4,8		110			
29. IV.	80	+ 45	24	+ 26	7,4	− 5,3	120	− 20	+ 43	1 : 50.000 Adrenalin inf.
12 kg	125		50		3,2		96			
3. V.	60	+ 70	40	+ 10	18,9	15,1	428	− 73	+ 12	Vor dem Adrenalin Dial gegeben.
14 kg	130		50		3,8		116			
9. V.	50	+100	30	+ 45	13,6	11,0	240	47	+ 50	1 : 50,000 Adrenalin inf.
18 kg	150		75		2,6		126			
16. V.	80	+ 70	90	+ 60	7,5	7,5	400	− 100	+ 33	Vor dem inf. Dial gegeben.
11,5 kg	150		150		0,0		0!			
26. V.	80	+ 40	15	+ 23	18,5	−15,3	186	− 62	0	0,5 mg/kg Adrenalin i. v.
9 kg	120		38		3,2		74,1			

Die Wirkung von Adrenalin auf den Blutkreislauf und Oxygenverbrauch der Extremität.

Wie ich schon in der Einleitung erwähnte, ist aus den Untersuchungen von Kramer bekannt, daß die durch eine Adrenalininfusion hervorgerufene Kapillarverengung während der Dauer der Infusion mit einer Herabsetzung der Oxygenaufnahme einhergeht, während nach der Beendigung der Infusion die O_2-Aufnahme über das Normale steigt. Diese Resultate sind mit meinen Untersuchungen in Einklang zu bringen. Es ist leicht verständlich, daß, wenn das Eröffnen neuer Kapillaren imstande ist, die Oxygenaufnahme zu steigern, dann eine Verengung derselben auch imstande sein muß, diese Oxygenaufnahme herabzusetzen, und erscheint es auch selbstverständlich, daß die nach dem Abbrechen der Infusion auftretende reaktive Hyperämie — mit anderen Worten: das Eröffnen der Kapillaren über das Normale — mit einer Steigerung der O_2-Aufnahme der Extremität bzw. der Muskulatur einhergehen muß.

Kramer führte seine Versuche auf die Weise aus, daß er das Adrenalin intraarteriell infundierte und dies in einem derartigen Tempo durchführte, daß der Blutdruck keine Steigerung erleiden konnte. Auf diese Weise verlangsamte sich die Strömung in der Vena femoralis infolge Verengung der Gefäße in erheblichem Maße, und trotz der gleichzeitig auftretenden Steigerung der Blutausnutzung fand er im Endresultat die Oxygenaufnahme der Extremität verringert.

Bei meinen Versuchen ging ich so vor, daß ich Adrenalin in einer Lösung 1 : 50000 in die Vena jugularis solcher Tiere infundierte, deren Blutdruck unter dem Normalen lag. Die Adrenalineinströmung regulierte ich derartig, daß der Blutdruck von diesem niederen Originalniveau auf das Normale, d. i. auf 130—140 mm Hg zu stehen kam. Auf diese Weise wurde die Strömungsgeschwindigkeit in der Vena femoralis nicht verlangsamt, sondern infolge des erhöhten Druckes beschleunigt, und strömte mehr Blut durch die Gefäße, als dies unter normalen Umständen der Fall ist. Indem ich die Infusion durch längere Zeit hindurch (10—15 Minuten) aufrechterhielt, erreichte ich, daß sich zwischen der Geschwindigkeit der Blutströmung und der O_2-Aufnahme eine Gleichgewichtslage ausbildete.

Die Wirkung der Adrenalininfusion ist in Abb. 1 gut veranschaulicht. Der Blutdruck auf die Adrenalinwirkung hin von 60 mm Hg auf 130 mm Hg gestiegen, wobei gleichzeitig die Strömungsgeschwindigkeit in die Vena femoralis von 40 kcm pro Minute auf 50 kcm pro Minute erhöht erscheint. Bei der Bestimmung des Oxygengehaltes des Venenblutes stellte sich dann heraus, daß die arterio-venöse Differenz erheblich verringert war, und zwar von 18,9 auf 3,8%. Die Oxygenausnutzung ist also in einem Maße gefallen, welches keinesfalls mit der geringfügigen Beschleunigung der Strömungsgeschwindigkeit im Verhältnis steht.

Wenn wir aus diesen Daten den O_2-Verbrauch der Extremität errechnen, kommen wir zu demselben Resultat wie Kramer, d. i. daß derselbe gefallen ist, und macht hier die Differenz 73 % aus. Gleichzeitig also während der Dauer der Infusion fällt der Gesamtverbrauch des Tieres an Oxygen nicht, sondern erscheint, wie dies allgemein bekannt, auch um 12 % gesteigert.

Die Resultate der Versuche werden durch Tabelle 4 veranschaulicht. Es ergibt sich aus diesen, daß während der Adrenalininfusion gleichzeitig mit der Steigerung des Blutdruckes und Beschleunigung der Blutströmung die Ausnutzung des Blutes derartig fällt, daß im Endresultat der Oxygenverbrauch der Extremität in jedem Falle erheblich verringert erscheint. Die Verringerung des Oxygenverbrauches ist um so größer, je größer die Anzahl der vor der Adrenalininfusion schon geöffneten Kapillaren, je höher also die Oxygenaufnahme der Extremität war. Eine besonders intensive Wirkung konnten wir bei jenen Versuchen beobachten, mit denen wir die Kapillaren vorhergehend durch Dialverabreichung schon geöffnet und auf diese Weise die O_2-Aufnahme gesteigert hatten. Bei jenen Versuchen hingegen, bei welchen sowieso wenig Kapillaren geöffnet waren und so die Oxygenaufnahme vor der Adrenalinverabreichung auch niedrig war, fiel dieselbe auch auf die Adrenalinwirkung nicht in nennenswertem Maße.

Interessant ist, daß der Gesamtverbrauch des Tieres an Oxygen während der Infusion, also zu einer Zeit, zu welcher die Oxygenaufnahme der Extremität stark gesunken war, eine ausgesprochene Steigerung aufweist.

Dieser Umstand gestattet den Hinweis, daß, wie dies auch Rein betonte, Adrenalin auf gewissen Gefäßgebieten (Leber, Nieren usw.) die Gefäße nicht in dem Maße verengt, wie im ruhenden Muskel und kommt so bei diesen Gebieten die Zellenatmung direkt steigernde Wirkung des Adrenalins zur Geltung.

Wenn wir die Tabelle 4 genauer betrachten, wird uns auffallen, daß das Sinken des Stoffwechsels der Extremität nicht durch den Umstand hervorgerufen wird, daß infolge der Adrenalinwirkung weniger Blut durch die Extremität strömt — wächst ja die Strömungsgeschwindigkeit —, sondern daß die arterio-venöse Differenz in erheblichem Maße sinkt. Scheinbar liegt die Situation so, daß auch während der Adrenalinwirkung die Extremität von genügend Blut, sogar in den normalen Zustand überschreitender Menge, durchströmt wird. Die Zellen nutzen jedoch diese größere Blutmenge nicht aus, es wird mit anderen Worten der Eindruck erweckt, als wenn Adrenalin den Stoffwechsel der Zellen direkt behindert hätte. Dies ist jedoch nicht wahrscheinlich, wissen wir ja, daß Adrenalin die Zellatmung steigert, und bewirkte andererseits ja gerade die Adrenalinwirkung in meinen Versuchen eine Steigerung des Gesamtoxygenverbrauches.

Dieser scheinbare Widerspruch läßt sich leicht erklären, wenn wir wissen, daß zwischen Arteriolen und Venulen äußerst kurze Durchgänge bestehen, durch welche das Blut mit Umgehung der Kapillaren von der Arterie direkt gelangen kann. Diese kurzen arterio-venösen Verbindungswege wurden sowohl im Bindegewebe unter der Haut, als auch im Muskel selbst morphologisch festgestellt. Es scheint nun, daß das Adrenalin diese arterio-venösen Durchgänge in geringerem Maße zusammenzieht, als die Kapillaren. Auf diese Weise wird es verständlich, daß während der Adrenalinwirkung das Blut statt durch die geschlossenen Kapillaren über diese kurzen Anastomosen hinweg aus der Arterie direkt in die Vene gelangt, ohne daß es mit den Muskelzellen in Berührung gekommen wäre, ohne also sein Oxygen abgegeben zu haben.

So kommt das starke Abfallen der arterio-venösen Differenz zustande, und nur so ist es erklärlich, daß bei dem einen Versuch diese Differenz bis auf Null reduziert wurde, d. i. daß das Arterienblut genau so viel O_2 enthielt, wie das Blut der Vena femoralis.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß durch die Adrenalinwirkung die Kapillaren der Extremität verengert werden und daß die Oxygenaufnahme verringert erscheint. Diese Abnahme tritt auf, trotzdem die Blutströmung nicht verlangsamt erscheint, ja im Gegenteil eine erhöhte Geschwindigkeit aufweist. Diese Erscheinung findet ihre Erklärung in dem Umstande, daß das Blut nunmehr durch die kurzen arterio-venösen Anastomosen strömt, und die Muskelzellen so nicht genügend Oxygen zugeführt erhalten können.

Besprechung der Ergebnisse.

Grafe (13) und Terroine (14) haben nachgewiesen, daß die Zellen in Gewebsschnitten viel mehr O_2 verbrauchen als im Organismus, und zwar je größer das Tier, um so größer der Unterschied zwischen in vivo- und in vitro- Gasstoffwechsel. Der O_2-Verbrauch in Gewebsschnitten verschiedener Säugetiere ist von ungefähr gleicher Größe, und zwar durchschnittlich $Q_{O_2} = 1.0$, dagegen findet man im lebenden Tier den auf 1 kg Körpergewicht berechneten Gasstoffwechsel sehr verschieden, so z. B. bei der Maus 2—3 Liter O_2 pro kg, bei dem Hunde 0,4—0,5 Liter, bei dem Rinde 0,1 Liter pro Stunde. Wahrscheinlich hat die Regulierung der Blutversorgung eine wichtige Rolle in der nötigen Begrenzung des O_2-Verbrauches in den Zellen. Wenn man in einem Tier die auf 1 kg berechnete Kalorienbildung mit der Pulszahl in einer Stunde und Kapillarzahl in 1 cmm Muskel dividiert, so ist der sich ergebende Quotient bei verschieden großen Tieren fast derselbe: und zwar 19 23. Also je kleiner das Tier ist, um so schneller erscheint die Zirkulation und um so größer die Blutversorgung im Muskel, wodurch eine höhere Kalorienbildung möglich wird.

Es ist bekannt, daß die Blutversorgung eines arbeitenden Muskels steigt, und zwar durch den Umstand, daß die in der Ruhe geschlossenen

Kapillaren sich dem O_2-Bedarf gemäß öffnen. In diesem Mechanismus ist unzweifelhaft die Muskelarbeit das primäre und die Erweiterung der Kapillaren das sekundäre Phänomen.

Als grundlegend erscheint die Frage, was für eine Rolle die Blutversorgung in der Regelung des Muskelstoffwechsels spielt?

Die eine Möglichkeit wäre, daß der Muskel unabhängig von der Blutversorgung von dem in Überschuß der gebotenen O_2 nur die dem augenblicklichen Bedarf entsprechenden Mengen verbraucht. Da aber die Muskelzellen in vitro viel mehr O_2 verbrauchen als in vivo, ist man genötigt, anzunehmen, daß im lebenden Organismus sich Hemmungen zentralen Ursprunges befinden, die dem Bedarf gemäß die O_2-Aufnahme der Muskelzellen regulieren.

Eine zweite, aber einfachere Möglichkeit wäre, daß diese Eingrenzung des O_2-Verbrauches durch Regulierung der Blutversorgung zustande kommt, und die Muskelzellen dem Angebot gemäß O_2 verbrauchen. Dies ist der Fall bei in vitro-Versuchen, da bei Messungen mit der Warburgschen Methode die O_2-Versorgung der Zellen optimal ist, weil die Gewebsschnitte dünner sind als die von Warburg bei der O_2-Diffusion bestimmten optimalen Schichtdicken. Deswegen verbrauchen diese Gewebsschnitte mehr O_2 als die bei der von Mansfeld (15) neuerdings empfohlene Parnaschen (16) Methode gebrauchten größeren Organstücke. Mansfeld veranschaulicht in einer interessanten Tabelle, daß in solchen Fällen der O_2-Verbrauch der Muskelstücke fast parallel mit dem Oxygenverbrauch des sich im Organismus befindenden und blutdurchströmten Muskels, verläuft. Während der O_2-Verbrauch eines im Manometergefäß aufgehängten Muskelstückes durch die Diffusionsgeschwindigkeit des Sauerstoffes begrenzt wird, wegen dessen Langsamkeit die sich im Inneren des Muskelstückes befindlichen Zellen wenig oder gar kein O_2 erhalten, begrenzt den O_2-Verbrauch eines sich im Organismus befindlichen Muskels die Zahl der offenen Kapillaren, weil die von den geöffneten Kapillaren entfernt liegenden Zellen durch Diffusion nur wenig O_2 erhalten.

Wenn diese Annahme richtig ist, so muß in vivo die Verbesserung der Blutversorgung zur Erhöhung des O_2-Verbrauches im Muskel führen. Auch im vitro-Versuche steigt der O_2-Verbrauch, wenn man genügend dünne Schnitten verwendet, oder wenn man durch Steigerung des O_2-Druckes dafür sorgt, daß auch im Innern des Muskelstückes genügend O_2 diffundiert.

Dadurch sind meine Versuchsergebnisse, welche gemäß gefäßerweiternder Stoffe verschiedener Typen den O_2-Verbrauch im Muskel steigern und gefäßverengernde Mittel denselben vermindern, verständlich.

Aus diesen Versuchen kann die Schlußfolgerung gezogen werden, daß die Blutversorgung der Muskeln eine entscheidende Rolle bei der Regelung des O_2-Verbrauches spielt. Die Eröffnung der Kapillaren bewirkt im ruhenden Muskel eine starke Steigerung des Gasstoffwechsels, auch

dann, wenn dies durch solche Mittel bewirkt wird, welche anscheinend keine direkte Wirkung auf die Muskelzellen haben (Dial, Nitroglycerin, Histamin). Dementgegen ist es fast sicher, daß die Erhöhung des O_2-Bedarfes im Muskel zu einer Verbesserung führt. Darauf weisen die Dinitrophenol-Versuche hin, bei deren Wirkung die primäre Erscheinung unzweifelhaft die Steigerung des Gasstoffwechsels ist, während die Gefäßerweiterung nur eine sekundäre, der Arbeitshyperämie gleiche, Erscheinung darstellt.

Sehr interessant sind einige meiner Versuchsergebnisse — die aber noch weiter geklärt werden müssen —, daß natürlich der O_2-Verbrauch einer Extremität auch dann steigen kann, wenn der Gasstoffwechsel im ganzen Tiere fällt. Dies sah ich nach Verabreichung von Histamin und Dial in vier Fällen, wo also der O_2-Verbrauch der inneren Organe sich in einem Maße vermindern muß, daß dadurch die Steigerung des Verbrauches in den Muskeln überkompensiert wird.

Es ist anzunehmen, daß in diesen Fällen das Splanchnicusgebiet sich dermaßen stark erweitert, daß sich die Blutversorgung der inneren Organe verschlechtert und dadurch die Verminderung des O_2-Verbrauches hervorgerufen wird. Nach dem Verabreichen von gefäßverengerndem Adrenalin ist eine entgegengesetzte Wirkung zu beobachten. da nämlich bei der beträchtlichen Senkung des O_2-Verbrauches im Muskel dieser Verbrauch in den inneren Organen stark steigt und es dadurch zu einer übernormalen Steigerung des O_2-Verbrauches im ganzen Organismus kommt. Adrenalin steigert also — ebenso wie nach Mansfeld das Thyroxin — den O_2-Verbrauch der inneren Organe auch dann, wenn in den Muskeln der O_2-Verbrauch durch seine gefäßverengernde Wirkung herabgesetzt wird.

Diese Versuche veranschaulichen also, daß der Stoffwechsel des Muskels viel mehr der Blutversorgung unterworfen ist als der der inneren Organe. Der Grund für diese Erscheinung kann vielleicht darin gesucht werden, weil die letzteren ständiger und gleichmäßiger arbeiten und keinen solchen Schwankungen unterworfen sind, wie dies bei dem ruhenden und arbeitenden Muskel der Fall ist. Deswegen wird der Stoffwechsel der inneren Organe höchstwahrscheinlich hormonal und durch direkte Innervation geregelt.

Zusammenfassung.

Die Strömungsgeschwindigkeit habe ich an der Vena femoralis von mit Dial-Morphin narkotisierten Hunden mit der Reinschen Thermostromuhr gemessen. In aus der Arteria carotis communis und Vena femoralis entnommenen Blutproben bestimmte ich den O_2-Gehalt des Blutes. Aus der arterio-venösen O_2-Differenz und aus der Strömungsgeschwindigkeit bestimmte ich den gesamten O_2-Verbrauch des Beines.

1. Nach 70—100 mg pro kg Dial fällt der Blutdruck und durch die Erweiterung der Blutgefäße wird in der Vena femoralis die Strömung

beschleunigt. Die arterio-venöse Differenz steigt, es erscheint also der O_2-Verbrauch des Hinterbeines erhöht. Der Gesamt-O_2-Verbrauch des Tieres wird zu gleicher Zeit etwas vermindert.

2. 0,05 mg pro kg Nitroglycerin bewirkt eine starke Blutdrucksenkung. Die Strömung in der Vena femoralis wird entweder schneller oder auch etwas geringer. Die arterio-venöse Differenz erhöht sich in einem Maße, daß der O_2-Verbrauch des Hinterbeines auch eine Steigerung aufweist. Der O_2-Verbrauch im ganzen Tier erscheint auch gesteigert.

3. Durch eine Histamininfusion (1 : 10000) wird der Blutdruck kaum verändert, die Strömungsgeschwindigkeit sowie die arterio-venöse Differenz erfahren beide eine Steigerung; es wächst also der Oxygenverbrauch der Extremität in erheblichem Maße. Der Gesamtoxygenverbrauch des Tieres bleibt unverändert.

4. 5 mg kg α-Dinitrophenol steigern den Oxygenverbrauch der Extremität des Tieres erheblich, und manifestiert sich diese Erscheinung zum Teil in dem Wachsen der arterio-venösen Differenz, zum Teil in einer Beschleunigung der Blutströmung, d. i. in einer Erweiterung der Blutgefäße. Mit der Erhöhung des Oxygenverbrauches der Extremität erfährt auch der Gesamtoxygenverbrauch des Tieres eine Steigerung.

5. Eine Adrenalininfusion 1 : 50000 steigert den Blutdruck erheblich, welche Reaktion eine Beschleunigung der Strömungsgeschwindigkeit des Blutes zur Folge hat. Gleichzeitig fällt die arterio-venöse Differenz dermaßen, daß im Endresultat der Oxygenverbrauch der Extremität während der Dauer der Infusion unter das Normale zu stehen kommt. Der Gesamtoxygenverbrauch wird durch Adrenalin gesteigert.

Es scheint so, daß die Erweiterung der Kapillaren zu einer Steigerung des Oxygenverbrauches des Muskels führt, während die Verengerung der Kapillaren eine Senkung desselben hervorruft.

Literatur.

1) Rein u. Schneider: Pflügers Arch. **239**, 451. — 2) Rein u. Schneider: Ebenda, S. 464. — 3) Rein u. U. Otto: Ebenda **243**, 303. — 4) Rein u. Martens: Ebenda **237**. — 5) Kramer u. Schäfer: Sitzungsber. d. Heidelberger Akad. d. Wissenschaften 1939. — 6) Schoebel: Pflügers Arch. **237**. — 7) Issekutz jr., B. v.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 332 (1941). — 8) Krogh: Physiologie der Capillaren. — 9) Jacobi, C. u. C. Roemer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **66**, 261. — 10) Dale u. Richards: J. Physiol. (Brit.) **52**, 110 (1918). — 11) Rühl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **145**, 554. — 12) Mateeff u. Schneider: Pflügers Arch. **236**. — 13) Grafe, Reinwein u. Singer: Biochem. Z. **165**, 102 (1925). — 14) Terroine: C. r. Acad. d. scien. **178**, 1022 (1924). — 15) Mansfeld, G. u. I. Scheff-Pfeifer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 585. — 16) Parnas, J.: Zbl. Physiol. Bd. XXX, 1 (1915).

Bestimmung des Blutsauerstoffs mittels lichtelektrischen Kolorimeters.

Von

B. v. Issekutz jr.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 29. Januar 1941.)

Seitdem Lange das erste lichtelektrische Kolorimeter konstruierte, wurde die rasche und genaue Messung des Oxygengehaltes im Blute, richtiger gesagt des Gehaltes an Oxyhämoglobin, möglich gemacht. Eine derartig genaue, mit einem Fehlermaximum von nur 1% arbeitende kolorimetrische Oxygenbestimmung weist natürlicherweise größere Vorteile den schwerfälligen und mit vielen Fehlerquellen behafteten gasometrischen Methoden gegenüber auf. Die Bestimmung des Blutoxygens auf kolorimetrischem Wege beruht auf der Tatsache, daß zwischen den Wellenlängen 6000—6800 Å die Adsorption der Strahlen des reduzierten Hämoglobins viel größer, fast dreimal so groß ist, als die des Oxyhämoglobins.

Ein solches Verfahren hat Kurt Kramer (1) mit dem Kolorimeter von Lange ausgearbeitet. Er bestimmte die Lichtadsorption des zum Teil reduzierten Blutes vor seiner vollständigen Sättigung mit Oxygen. Da aber das Maß der Adsorption auch von dem Gehalt an Hämoglobin abhängig ist, ergibt die Differenz der beiden Bestimmungen nicht direkt das Oxygendefizit, und muß dieses mit Zuhilfenahme einer zweifachen Eichkurve ausgerechnet werden.

Im Jahre 1939 konstruierte Havemann (2) nach einem neuen System ein auf dem Kompensationsprinzip beruhendes strahlenelektrisches Kolorimeter, welches ein Galvanometer als Nullgerät verwendet. Dieses Kolorimeter ist besonders für Messungen geeignet, bei welchen nicht die Extinktion einer zu untersuchenden Lösung, sondern die durch irgendeine chemische Reaktion hervorgerufene Veränderung der Extinktion gemessen werden soll. Mit Hilfe dieses Apparates wurde es ermöglicht, zwei Methoden der Blutoxygenbestimmung auszuarbeiten, welche beide von dem Hämoglobingehalt vollkommen unabhängig sind. Das Prinzip derselben ist folgendes:

A. Oxydationsverfahren.

Bluthämoglobin kann oxydiert werden. Aus der Abnahme der bei diesem Prozeß auftretenden Extinktion läßt sich die Höhe der aufgenommenen Oxygenmenge bestimmen. In Kenntnis der Oxygenkapazität des Blutes kann dann der Oxygengehalt des zu bestimmenden Blutes festgestellt werden.

B. Reduktionsverfahren.

Das Oxyhämoglobin wird durch $Na_2S_2O_3$ reduziert und dann die Steigerung der Extinktion gemessen. Auf diese Weise ist es möglich, den Oxygengehalt des Blutes auf direktem Wege zu bestimmen. Da nun für die Messung des oxydierten sowie des reduzierten Hämoglobins das Gebiet der Wellenlänge 6000—6800 Å das geeignetste ist, wird zwecks Ausschaltung der kürzeren Wellen die Filterkombination BG 17 – Rg 1 OG 3 (Schlott u. Gen., Jena) angewendet. BG 17 fungiert als Hitzefilter, um die beiden anderen Filter vor Überhitzung zu schützen.

Für beide Verfahren ist die Konstruktion von Eichkurven notwendig, welche folgendermaßen aufgeführt wird.

A. Oxydationsverfahren.

Benötigt werden: 1. Eine oxygenfreie 0,24% Ammonium und 0,5% Saponin enthaltende Lösung. In einem Glaskolben werden $1^1/_2$ Liter destilliertes Wasser im Nitrogenstrom über glühendem Kupfer eine halbe Stunde hindurch gekocht, 15 ccm Liquor ammonii caustici (24%ig) und 7,5 g Saponin hinzugefügt, daraufhin noch 5 Minuten gekocht und im ständigen Nitrogenstrom abkühlen gelassen. Die auf diese Weise hergestellte und auch von Kramer verwendete Lösung ist vollständig oxygenfrei und hämolysiert das Blut innerhalb 1—2 Minuten.

2. Eine aufs genaueste kalibrierte Tuberculinspritze mit $^1/_{100}$-Einteilung.

3. Eine mit Glasplättchen bedeckbare Küvette von 5 mm Schichtdicke und 5 ccm Rauminhalt, welcher mit einer vorher eingesetzten Glasperle zusammen aufs genaueste bestimmt wurde.

Die Eichkurve wurde von mir nach folgender Methode konstruiert: Frisches Rinder- oder Hundeblut wurde im Verhältnis 1 : 1,5 mit destilliertem Wasser verdünnt, 3—15 Minuten evakuiert, und dann der O_2-Gehalt des Blutes einerseits kolorimetrisch, andererseits nach van Slyke gasometrisch bestimmt.

Die kolorimetrische Bestimmung wurde folgendermaßen vorgenommen: Ich spritzte 0,5 ccm des evakuierten Blutes mit der Tuberculinspritze auf den Boden der mit O_2-freier Ammoniak-Saponin-Lösung beschickten Küvette, bedeckte diese mit einem Glasplättchen, wobei ich genau darauf achtete, daß keine Luftblasen zurückblieben. Wenn nun mit Hilfe der vorher eingesetzten Glasperle der Inhalt gut durchgeschüttelt wird, hämolysiert das Blut innerhalb 1—2 Minuten vollkommen. Ich brachte nun die Küvette in das Kolorimeter, stellte die Meßzelle auf eine frei gewählte, aber stets konstante Grundentfernung, z. B. 300, sowie mit Zuhilfenahme des kompensierenden Elementes das Galvanometer auf den 0-Punkt ein. Darauf wurde das hämolysierte Blut aus der Küvette gesaugt und in einem

Kolben 1—2 Minuten mit Luft zusammen geschüttelt. Das auf diese Weise mit Oxygen gesättigte Blut wurde nun in die Küvette zurückgebracht und diese wieder in das Kolorimeter eingesetzt. Die Abweichung des Galvanometers wurde darauf mit Hilfe der Meßzelle kompensiert und der abgelesene Wert von dem Grundwert (300) abgezogen. Die gefundene Differenz steht mit der aufgenommenen Oxygenmenge im Verhältnis.

Die Bestimmung der aufgenommenen Oxygenmenge wurde mit der direkten Methode von van Slyke gasometrisch vorgenommen, also das freigewordene O_2 durch Natriumhydrosulfit absorbiert, da bei der Verwendung von evakuiertem Blut hier die sich auf N beziehende Korrektionstabelle von van Slyke nicht anwendbar ist. Die Differenz zwischen dem O_2-Gehalt des evakuierten und des mit Oxygen gesättigten Blutes ergibt das Quantum der aufgenommenen Oxygenmenge.

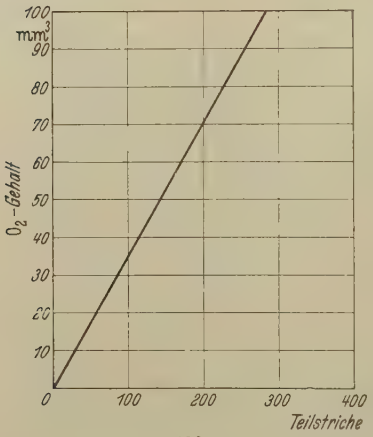


Abb. 1.

Den obigen Vorgang habe ich mit 4—5 in verschiedenem Verhältnis evakuierten Blutproben wiederholt und auf diese Weise die Eichkurve konstruiert (Abb. 1). Auf der Ordinate ist in cmm das aufgenommene Oxygen, auf der Abszisse hingegen sind die von der Meßtrommel abgelesenen Werte ersichtlich.

Die bei dieser Methode erhaltenen Werte sind unabhängig von dem Hämoglobingehalt des Blutes und stehen nur im Verhältnis zu der Menge des aufgenommenen Oxygens. Wenn das Blut stark reduziert ist, genügt es nur 0,5 ccm in die Küvette zu bringen, wenn dies jedoch in geringerem Maße der Fall ist, erscheint es angezeigt, mit mehr: 0,8—0,9 ccm, zu arbeiten, um mit dem Kolorimeter genügend große Extinktionsveränderungen messen zu können.

Um den Oxygengehalt des untersuchten Blutes feststellen zu können, muß uns auch die Oxygenkapazität desselben bekannt sein. Diese wird entweder direkt nach der Methode van Slykes bestimmt, oder wird der Hämoglobingehalt des Blutes nach der Methode Havemann kolorimetrisch gemessen, und kann dann aus dem Resultat die Oxygenkapazität errechnet werden, da 17 g Hämoglobin 22,44 ccm Oxygen entsprechen.

B. Reduktionsverfahren.

Dieses beruht auf der Eigenschaft des Oxyhämoglobins, durch Natriumhydrosulfit reduziert zu werden. Gemessen wird dann die Verstärkung der Extinktion. Es werden also bei Anwendung dieser Methode der Gehalt

an Oxyhämoglobin und so der Oxygengehalt des Blutes direkt festgestellt, vollkommen unabhängig davon, wieviel Gesamthämoglobin im Blute enthalten ist.

Die Kalibrierungskurve konstruierte ich auf die Weise, daß ich neben konstantem Gesamthämoglobingehalt den Gehalt an Oxyhämoglobin veränderte und die bei der Reduktion mit $Na_2S_2O_4$ auftretenden Extinktionsveränderungen feststellte.

Der Vorgang war folgender:

Ich verdünnte Hundeblut mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1 : 20 und stellte eine Oxyhämoglobinlösung her. Der Hämoglobingehalt dieser Lösung wurde durch Titrierung mit 0.01 n $K_3Fe(CN)_6$-Lösung nach der Methode Havemann (3) genau festgestellt. Dann klebte ich zwei 5 mm dicke Küvetten von 5 ccm Rauminhalt mit Cedernöl zusammen, genau darauf achtend, daß zwischen demselben keine Luftblasen zurückblieben. In die A-Küvette brachte ich in steigendem Maße 0, 1, 2, 3, 4 ccm, in die B-Küvette in fallender Menge 5, 4, 3, 2, 1 ccm der Oxyhämoglobinlösung in der Weise, daß die beiden Küvetten zusammen stets 5 ccm enthielten. Nun wurden die beiden Küvetten mit der Ammoniak-Saponin-Lösung auf je 5 ccm aufgefüllt. In der A-Küvette reduzierte ich das Oxyhämoglobin mit etwa 1 mg $Na_2S_2O_4$ vollkommen. Bei dieser Methode enthielten beide Küvetten neben gleichem Gesamthämoglobingehalt verschieden stark reduziertes und oxydiertes Hämoglobin. Die Doppelküvette wurde nun in den Kolorimeter gebracht, die Meßtrommel auf 50 eingestellt und mit dem Vergleichsphotoelement das Galvanometer auf den 0-Punkt gebracht. Nun reduzierte ich, indem ich die B-Küvette mit $Na_2S_2O_4$ versorgte, auch den Inhalt dieser, und kompensierte die infolge der Extinktionsveränderung auftretende Ausweichung des Galvanometers mit der Meßtrommel. Es kann also abgelesen werden, wie vielen Einteilungen die Reduktion einer bestimmten Menge Oxyhämoglobin entspricht. Aus diesen Daten kann dann natürlich auch der O_2-Gehalt errechnet werden.

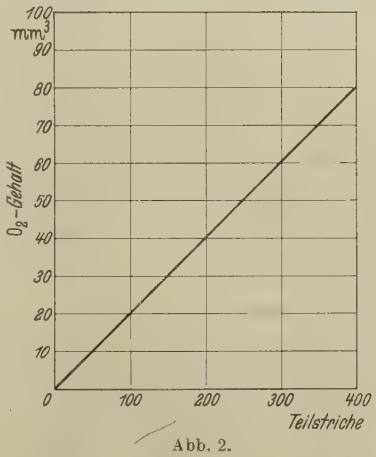


Abb. 2.

Auf diese Weise ist es also möglich, ohne irgendeine gasometrische Methode zu Hilfe nehmen zu müssen, rein auf kolorimetrischem Wege die zur Feststellung des Oxygengehaltes des Blutes notwendige Kalibrierungskurve zu konstruieren (Abb. 2). Die Ordinate zeigt den Oxygengehalt des Blutes in Millimetern, die Abszisse die von der Meßtrommel abgelesenen Werte an.

Mit Hilfe dieser Kurve geschieht nunmehr die O_2-Bestimmung der Blutprobe. Man spritzt aus der kalibrierten Tuberculinspritze 0,2—0,4 ccm Blut in die mit O_2-freier Ammoniak-Saponin-Lösung gefüllte Küvette von 5 ccm Rauminhalt und bedeckt dann diese neben genauer Achtung darauf, daß keine Luftblasen zurückbleiben, mit einem Glasplättchen. Nach 1—2 Minuten, wenn das Blut schon vollständig hämolysiert ist, wird die Küvette in das Kolorimeter eingesetzt, die Meßtrommel auf 50 eingestellt und mit dem Photoelement das Galvanometer auf den 0-Punkt gebracht. Dann wird in die Küvette etwa 1 mg $Na_2S_2O_4$ gebracht, zusammengeschüttelt und nach einer Minute die Messung vorgenommen.

Wenn wir nicht in O_2-freiem Medium arbeiten würden, würde die Oxydation des durch Natriumhydrosulfit reduzierten Hämoglobins rasch ihren Anfang nehmen. In unserem Falle kann jedoch diese Reoxydation die Bestimmung nicht stören, da ja kein O_2 zugegen ist.

Die aufgestellte Tabelle veranschaulicht einige vergleichende Bestimmungen von Blutproben verschiedenen Hämoglobingehaltes und in verschiedenem Verhältnis vorgenommene Evakuierungen. Den O_2-Gehalt des Blutes bestimmte ich gasometrisch nach van Slyke, sowie kolorimetrisch mit Zuhilfenahme sowohl des Oxydations- als auch des Reduktionsverfahrens.

Tabelle 1.

O_2-Gehalt nach van Slyke (A)	O_2 nach dem Reduktionsverfahren (B)	A — B	Dem Methämoglobingehalt entsprechende O_2 (C)	Die Differenz des O_2-Gehalts in %	O_2 nach dem Oxydationsverfahren	Bemerkungen
8,00	8,26	0,26		3		
22,7	24,08	2,62		6		
8,0	8,20	0,20		2,5		
17,5	18,1	0,60		3,4		
17,0	17,45	0,45		2,7		
4,36	4,45	0,09		2		
7,06	7,07	0,01		0		
13,9	15,2	1,30		9,8		
11,69	12,6	0,91		7,7	11,89	
8,67	9,45	0,78		9	8,3	
7,35				—	7,3	
26,29	27,60	1,31	0,64	2,7*	26,16	* Nach der Abziehung der C-Werte
16,11	16,80	0,69	0,64	0*	16,04	
12,48	12,67	0,19	0,28	0*		
6,47	6,94	0,47	0,28	2*	6,40	
9,04	9,38	0,34	0,28	0*	9,08	
13,17	14,00	0,83	0,78	0*		

Auffallend ist, daß das Reduktionsverfahren stets höhere O_2-Werte ergibt als das gasometrische. Die Größe der Differenz ist nicht gleich, sondern schwankt zwischen 2—10%. Diese Erscheinung entspricht den Feststellungen von Esther Ammundsen und Mogens Trier (5),

daß nämlich nur ein Teil des Hämoglobins aktiv und zur Bindung von O_2 geeignet ist, während ein kleiner Teil in irgendeiner inaktiven Form im Blute enthalten ist. Das aktive Hämoglobin ist imstande, mit CO direkt zu reagieren und wird zu CO-Hämoglobin. Dem entgegen bindet das inaktive Hämoglobin nur nach erfolgter Reduktion mit Natriumhydrosulfit CO. Den Untersuchungen von Ammundsen gemäß ist die Menge des inaktiven Hämoglobins individuell verschieden und kann bis zu 13% des Gesamthämoglobins ausmachen. Durch diese Tatsache finden auch die bei meinen Versuchen zwischen dem gasometrischen und dem Reduktionsverfahren beobachteten Abweichungen ihre Erklärung, reduziert ja das Natriumhydrosulfit auch das inaktive Hämoglobin.

Heubner (6) nimmt nämlich an, daß im normalen Blute auch Methämoglobin stets zugegen ist, welche Verbindung das zur Bindung von O_2 ungeeignete inaktive Hämoglobin bildet. Aus diesem Grunde habe ich in einer Reihe von Versuchen nach dem Verfahren von Havemann, Jung, von Issekutz jr. (4) auch den Methämoglobingehalt des Blutes bestimmt, und dem Resultate entsprechend den Wert von dem mit Hilfe des Reduktionsverfahrens gewonnenen O_2-Werte in Abzug gebracht. Wie aus der Tabelle ersichtlich, ist so die sich zwischen den beiden Verfahren ergebende Differenz wesentlich kleiner und übersteigt nicht 3%.

Endgültige Folgerungen können jedoch erst auf Grund von ausgebreiteten weiteren Versuchen gezogen werden.

Zusammenfassung.

Die Bestimmung des O_2-Gehaltes im Blute kann mit dem Kolorimeter nach Havemann nach zwei Methoden vorgenommen werden, welche beide vom Hämoglobingehalt vollkommen unabhängig sind.

Das eine Verfahren beruht auf der Oxydation des reduzierten Hämoglobins und bestimmt die mit der O_2-Aufnahme einhergehenden Extinktionsveränderungen.

Das andere Verfahren reduziert das Oxyhämoglobin durch $Na_2S_2O_4$ und bestimmt die Steigerung der durch die Reduktion hervorgerufenen Lichtabsorption.

Literatur.

1) Kramer, Kurt: Handb. d. biol. Arbeitsmethoden, Abderhalden, Abt. V, S. 1098. — 2) Havemann: Biochem. Z. **301**, 105 (1939). — 3) Havemann: Klin. Wschr. **1940**, S. 503. — 4) Havemann, Jung u. v. Issekutz jr.: Biochem. Z. **301**, 116 (1939). — 5) Ammundsen, Esther, and Mogens Trier: Acta med. skand. (Schwd.) **101**, 451. — 6) Heubner, W.: Klin. Wschr. **1940**, S. 328.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Münster i. Westf.
(Direktor: Prof. Dr. Lendle.)

Über die Wirkung methämoglobinbildender Gifte auf einige körpereigene reduzierende Stoffe*.

Von

W. Floren und **H. J. Heite.**

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Februar 1941.)

Die unter der Einwirkung mancher Gifte stattfindende Umwandlung des Blutfarbstoffes in Methämoglobin ist als einstufiger Oxydationsvorgang anzusehen. Das zweiwertige Eisen des Hämoglobins geht dabei in die dreiwertige Form über. Diese Auffassung ist durch zahlreiche Untersuchungen verschiedener Autoren belegt (1). Alle methämoglobinbildenden Gifte sind daher gegenüber dem Blutfarbstoff unter dem p_H und der Temperatur des lebenden Gewebes entweder selbst Oxydationsmittel, oder es werden solche aus dem Gift im Organismus gebildet.

Da es jedoch im Organismus neben dem Blutfarbstoff noch zahlreiche andere oxydable Stoffe gibt, ist von vornherein nicht zu erwarten, daß die Wirkung der Methämoglobinbildner sich allein auf die Oxydation des Blutfarbstoffes beschränkt. Für das Nitrit wird allerdings von v. Issekutz (2) unter Heubner eine elektive Umsetzung mit dem Blutfarbstoff angenommen. Er konnte zeigen, daß bei Katzen nach subkutaner Nitritinjektion soviel Methämoglobin gebildet wird, wie nach dem bekannten stöchiometrischen Reaktionsverhältnis Hämoglobin/Nitrit und der bei dem Versuchstier anzunehmenden Gesamtblutmenge zu erwarten ist. Jedoch sind diese Versuche nicht beweisend, da einmal die Schätzung der Gesamtblutfarbstoffmenge recht unsicher ist und andererseits, worauf auch Fritz Jung (3) hingewiesen hat, schon während der Bildung des Methämoglobins seine Rückbildung einsetzt. Bei Anwendung des v. Issekutzschen Berechnungsprinzips auf Meerschweinchen oder Kaninchen sind jedoch ganz andere Ergebnisse vorhanden. Hier müssen 3—4fach größere Nitritdosen pro kg Tier angewendet werden, um den gleichen Methämoglobinspiegel im Blute zu erreichen. Dieser Unterschied kann natürlich einmal darauf beruhen, daß diese Tiere pathologische Methämoglobinmengen viel schneller zu reduzieren vermögen. Andererseits könnte man auch annehmen, daß neben dem Hämoglobin noch andere Stoffe im Körper Nitrit verbrauchen.

---

* D 6.

Dabei ist wohl in erster Linie an alle stark reduzierenden Stoffe zu denken, mengenmäßig also im wesentlichen an Ascorbinsäure und das reduzierte Glutathion (Glutathiol). Pieper (4) konnte in vorausgegangenen Versuchen an Katzen keine Abnahme des mit Dichlorphenol-Indophenol titrierten Reduktionswertes in Lunge, Leber und Muskel unter akuter und chronischer Nitrit- bzw. Anilinwirkung finden. Jedoch sind diese Versuche vielleicht nicht eindeutig. Die von Pieper bei „normalen" Katzen gefundenen Ascorbinsäurewerte streuen z. T. erheblich. Ferner gehört die Katze zweifellos zu den Tieren, die einer Ascorbinsäuresynthese weitgehend fähig sind. Eine sichere Entscheidung über die Beteiligung der Ascorbinsäure könnten dagegen Versuche an einem gegen Vitamin C-Verlust empfindlichen Tiere erbringen. Vorteilhaft wird ferner eine Tierart sein, die nur „schwer" Methämoglobin bildet, d. h. bei der weniger Methämoglobin entsteht, als nach der v. Issekutzschen Überschlagsrechnung zu erwarten ist. Denn bei solchen Tieren müßte sich eine Oxydation anderer Körperstoffe neben dem Hämoglobin am deutlichsten nachweisen lassen. Beide Bedingungen erfüllt das Meerschweinchen, das daher als Versuchstier benutzt wurde.

Die Versuche erschienen besonders verlockend, da inzwischen von A. Drescher (5) gezeigt wurde, daß zum Blut zugesetzte Ascorbinsäure in vitro durch Nitrit und Ferricyanid zerstört werden kann. Die dabei gefundenen quantitativen Verhältnisse ließen vermuten, daß auch in vivo eine Zerstörung der Ascorbinsäure möglich ist.

Wir haben daher zunächst die Wirkung einiger Methämoglobinbildner auf den Ascorbinsäuregehalt einiger Meerschweinchenorgane untersucht. Wir verwendeten dabei einige bekannte methämoglobinbildenden Gifte: Natriumnitrit, Natriumchlorat, Anilin; ferner auch das Natriumferricyanid. Letzteres bildet zwar in vivo kein Methämoglobin, sondern nur in vitro nach Hämolyse, da es als stark ionisierter Körper die Erythrocytenmembran nicht zu durchdringen vermag. Das Ferricyanid müßte also seine Wirkung ungeschwächt auf leicht oxydable Körperstoffe ausüben können, da es vom Hämoglobin nicht verbraucht wird. An diesem Stoff müßten sich die zur Diskussion stehenden „Nebenwirkungen" der Methämoglobinbildner in „reiner Form" studieren lassen. Ferricyanid wird nach parenteraler Gabe nach älteren Angaben von Kunkel (6) im Körper teilweise zu Ferrocyanid reduziert und als solches im Harn ausgeschieden. Eine Oxydation irgendwelcher Körperstoffe, die nicht Hämoglobin sind, ist zum mindesten für das Ferricyanid mit Sicherheit anzunehmen.

I. Allgemeine Versuchsanlage und Methodik.

Das erste Versuchsziel war also, festzustellen, ob bei akuter oder chronischer Vergiftung Störungen im Vitamin C-Haushalt beim Meerschweinchen auftreten. Untersucht wurde:

1. bei akut vergifteten Tieren der Ascorbinsäuregehalt von Lunge, Leber und Muskel (linker Glutaeus);
2. bei chronisch vergifteten Meerschweinchen, die vitamin C-frei ernährt wurden,
   a) Vitamin C-Gehalt von Lunge, Leber und Muskel,
   b) das Verhalten des Körpergewichtes, das Auftreten typischer Skorbutzeichen und Skorbuttod.

Zur vitamin C-freien Ernährung verwendeten wir die von Demole (7) angegebene Skorbutkost mit der Abweichung, daß wir statt Haferschrot Weizenkleie benutzten. Außerdem ließen wir aus äußeren Gründen das Eiereiweiß fort, zumal ja in dem Milcheiweiß ausreichende Eiweißmengen zugeführt wurden. Die Meerschweinchen erhielten also:

1. ein Gebäck aus einem Gemisch von 2 Teilen Weizenkleie und 1 Teil Trockenmilch. Beides wurde 2—3 Stunden im Autoklaven erhitzt, mit etwas Wasser zu Brei angerührt und dann wie ein Kuchen auf einem Blech mit etwas Olivenöl gebacken. 2. Heu, das ebenfalls 2—3 Stunden im Autoklaven erhitzt worden war und 3. Wasser.

Die Tiere erhielten alles ad libitum. Der Boden der Käfige war mit Zellstoff belegt, der alle 4—5 Tage erneuert wurde.

Acht Tage lang bekamen die etwa 6 Wochen alten Meerschweinchen zunächst noch eine Grünfutterzulage zur Skorbutkost von täglich 10 g Frischgras, um sie an die neue Kostform zu gewöhnen. Die Tiere fraßen die Kost gern und nahmen dabei an Gewicht zu. Die Injektionen der Methämoglobinbildner begannen ebenfalls 8 Tage vor Beginn der vitamin C freien Ernährung. Nach Weglassen der Frischgraszulage wurde nun:

1. das Gewicht der Tiere alle 3 Tage bestimmt, 2. auf Skorbuterscheinungen bzw. Tod geachtet, 3. der Ascorbinsäuregehalt von Leber, Lunge und Muskel zu verschiedenen Zeiten bestimmt.

Zur Ascorbinsäurebestimmung wendeten wir das Prinzip der Methylenblautitration nach Martini und Bonsignore (8) an, jedoch mit einer Reihe von Abweichungen, die sich bei Nachprüfung der Methode als notwendig erwiesen. Die Methode beruht darauf, daß die Ascorbinsäure bei Belichtung das Methylenblau in seine Leukobase verwandelt. Dieser Vorgang ist nach den Angaben der Autoren in saurem Medium ziemlich spezifisch, da hier andere Substanzen wie Glutathion und Cystein nicht stören. Wir konnten diese Angaben für das Glutathion, das wegen seiner großen Menge in manchen Organextrakten in erster Linie von Einfluß sein könnte, bestätigen. Anstatt Trichloressigsäure oder Sulfosalizylsäure, die von vielen Autoren als Extraktionsmittel angegeben werden, benutzten wir 5%ige Metaphosphorsäure, da in ihr nach Feststellungen von Fujita und Ebihara (9), bestätigt durch Hinsberg (10), die Ascorbinsäure besser haltbar ist. Dies wird auch in einer neueren Arbeit von Wachol-

der (11) nicht bestritten. Auch wir konnten bei täglichen Bestimmungen einer Ascorbinsäurelösung mit 5%iger Metaphosphorsäure eine gute Haltbarkeit bestätigen.

Nun hat Neuweiler (12) darauf hingewiesen, daß das quantitative Reaktionsverhältnis zwischen Methylenblau und Ascorbinsäure nicht konstant ist, sondern mit der Wasserstoffionenkonzentration stark schwankt. Seine Untersuchungen erstreckten sich allerdings nur auf den Bereich von p_H 4,0–6,0. Bei niedrigerem p_H muß der von Martini und Bonsignore vorgeschriebene Thiosulfatzusatz weggelassen werden, da sonst Schwefel ausfällt. Der Thiosulfatzusatz hat weiter den Nachteil, daß sich bei elektrometrischer p_H-Messung mittels Chinhydronelektrode kein konstantes Potential einstellt. Da wir aber auf exakte elektrometrische p_H-Messung angesichts der Einwände Neuweilers nicht verzichten konnten, mußten wir den Thiosulfatzusatz weglassen. Bei seiner Abwesenheit findet jedoch sehr leicht eine Wiederauffärbung des Leukomethylenblaus durch den Luftsauerstoff statt. Man muß dann sehr sorgfältig auf Entfernung des im Reaktionsgemisch gelösten Luftsauerstoffs achten. Martini und Bonsignore trieben den Sauerstoff durch Erzeugung von Kohlensäure aus Bicarbonat im Reaktionsgemisch aus. Die dabei entstehenden ziemlich geringen CO_2-Mengen reichten nach unserer Beobachtung jedoch nicht aus, eine Wiederblaufärbung zu verhindern. Wir haben daher auch den Bicarbonatzusatz weggelassen und dafür Kohlensäure durch das Reaktionsgemisch perlen lassen. Die Kohlensäure wurde im Kippschen Apparat erzeugt, in einer Bicarbonatlösung von Salzsäurespuren gereinigt und gewaschen und einige Minuten vor und während der ganzen Titration durchgeleitet. Unter diesen Titrationsbedingungen untersuchten wir zunächst die Abhängigkeit der Reaktion zwischen Methylenblau und Ascorbinsäure vom p_H. Wir fanden (s. Kurve 1), daß um p_H 4 herum der günstigste Titrationspunkt liegt. Unter p_H 3,8 und über 4,2 bringen bereits geringe p_H-Änderungen eine erhebliche Verschiebung des Reaktionsverhältnisses mit sich. Die Befunde von Neuweiler konnten also bestätigt und in stärker saurem Bereich ergänzt werden.

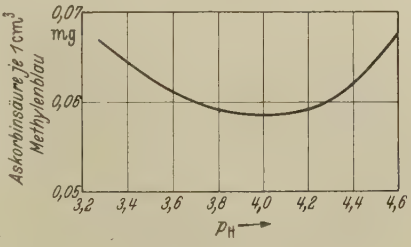


Abb. 1. Abhängigkeit der Methylenblautitration vom p_H-Wert.

Voraussetzung für genaue Titration ist also eine ausreichende Pufferung bei p_H 3,8. Die Pufferung muß so stark sein, daß durch den Organzusatz keine größere Verschiebung vom p_H als bis höchstens 4,2 auftritt. Dies konnte durch entsprechend größeren Citratzusatz leicht erreicht werden. Damit konnte die von Neuweiler vorgeschlagene umständliche p_H-Messung bei jeder einzelnen Titration fortfallen. Wurde die Titration unter diesen

Kautelen durchgeführt, so konnte zum Organextrakt zugesetzte Ascorbinsäure quantitativ wiedergefunden werden.

Die Titrationsvorschrift würde also etwa lauten: 5 ccm Organextrakt mit 5%iger Metaphosphorsäure werden mit einer vorher bestimmten Menge 5%iger Natriumcitratlösung versetzt. Die Citratmenge muß so bemessen sein, daß ein Puffer vom p_H 3,8—3,9 entsteht. Dazu braucht man etwa 3,5 ccm der 5%igen Lösung. Dann wird unter CO_2-Durchleitung und Belichtung mit einer 500 Watt-Lampe mit einer Methylenblaulösung bis zur Farbgleichheit mit dem Kontrollgläschen (s. Originalvorschrift von Martini und Bonsignore) titriert. Der Titer der Methylenblaulösung muß an jedem Arbeitstage mit einer Ascorbinsäurestandardlösung ermittelt werden, deren Gehalt wiederum durch Jodattitration bestimmt wird.

Wir untersuchten ferner in Erweiterung der anfänglichen Fragestellung auch den Glutathiongehalt der Organe. Zur Bestimmung des reduzierten Glutathions, die gleich hier besprochen sei, benutzten wir die Titration mit Jodat nach Fujita und Numata (13). Das Glutathion wurde im gleichen Organextrakt wie die Ascorbinsäure (5%ige Metaphosphorsäure; p_H etwa 1,8) bei Überschuß von Kaliumjodid und mit Stärke als Indikator mit einer n/1000 Kaliumjodatlösung in Eiswasser titriert.

Ansatz: 5 ccm Extrakt oder Standardlösung
+ 0,5 ccm einer 4%igen Kaliumjodidlösung
+ 5 Tropfen einer 1%igen Stärkelösung in gesättigter NaCl-Lösung.

Mit dieser Methode kann nur das reduzierte Glutathion bestimmt werden. Die oxydierte Form, die nur einen geringen Prozentsatz ausmacht, konnten wir bei unseren Versuchen vernachlässigen, da es uns darauf ankam, festzustellen, ob das reduzierte Glutathion unter der Einwirkung der Gifte abnahm. Der Teil der Jodatlösung, der auf die mittitrierte Ascorbinsäure entfällt, wurde mit der Methylenblaumethode bestimmt und abgezogen.

Bei der Glutathionbestimmung im Blute hielten wir es für richtig, die von Fujita, Ebihara und Numata (14) bei der Ascorbinsäurebestimmung angewandte Vorsichtsmaßnahme zur Verhinderung von Autoxydation anzuwenden. Die Autoren hatten gezeigt, daß bei der Enteiweißung von Blut und stark oxyhämoglobinhaltigen Organen ein großer Teil der Ascorbinsäure durch den freiwerdenden Sauerstoff des Oxyhämoglobins zerstört wird. Sie verhinderten diesen Verlust durch Durchleiten von Kohlenoxyd vor der Enteiweißung. Wir konnten auch nachweisen, daß ein entsprechender Verlust an reduziertem Glutathion eintritt, der mittels Kohlenoxyddurchleitung zu verhindern ist.

Das Kohlenoxyd wurde vorher aus gelbem Blutlaugensalz und konzentrierter Schwefelsäure hergestellt, durch Kalilauge gewaschen und im Gasometer aufbewahrt. Zur Durchleitung wurde es noch in 2 Wasch-

flaschen mit alkalischer Pyrogallollösung von Sauerstoffspuren gereinigt. Zur Verhinderung der Schaumbildung wurde ein Tropfen Oktylalkohol zugesetzt. Nach 3 Minuten CO-Durchleitung wurde durch Zusatz von 10%iger Metaphosphorsäure enteiweißt. Kontrollversuche zeigten, daß der Zusatz von Oktylalkohol nicht störte und 3 Minuten CO-Durchleitung ausreichten.

Zur Kontrolle des Wirkungsgrades der methämoglobinbildenden Gifte wurden vielfach auch Methämoglobinbestimmungen im Blute der Versuchstiere notwendig. Wir bedienten uns dazu einer stufenphotometrischen Methode („Cyanidreaktion"), die auch von Heite (15) verwendet wurde. Die Blutanalysen wurden bei den Tieren durchgeführt, die zur Vitamin C-Bestimmung getötet wurden.

II. Die Wirkung auf den Ascorbinsäurebestand.

In Vorversuchen mußten zunächst die zweckmäßigerweise anzuwendenden Dosen der 4 Methämoglobinbildner ermittelt werden. Wir bestimmten dazu die ungefähre tödliche Dosis der 4 Gifte bei einmaliger subkutaner Injektion und dann diejenige Dosis, die Meerschweinchen bei täglicher Injektion über längere Zeit (28—30 Tage) vertrugen. Die Ermittlung der in der folgenden Zusammenstellung angegebenen Grenzwerte erfolgte in systematischen Reihenversuchen an größerem Tiermaterial (Tabelle 1).

Tabelle 1. Dosis bei akuter und chronischer Vergiftung.

Methämoglobinbildner	Akut letale Dosis	Bei täglicher Injektion vertragene Dosis	
	mg/kg	mg/kg	% der letalen Dosis
Natriumnitrit	150	90	60
Natriumferricyanid	200—300	150	etwa 60
Anilin	600	300	50
Natriumchlorat	1000—2000	1000	etwa 60

Unter täglicher Injektion wurden bei den Nitrittieren maximal etwa 40%, bei den Anilintieren etwa 15% Methämoglobin gebildet. Die sicher tödliche Dosis von Natriumchlorat liegt so hoch, daß ihre subkutane Injektion schwierig wird. Einige Tiere vertrugen 1 g Chlorat pro kg lange Zeit; sie bildeten jedoch kein Methämoglobin. Nur bei den Chlorattieren, die nach einer oder wenigen Injektionen starben, konnte Methämoglobin nachgewiesen werden.

a) Akute Vergiftung normaler Meerschweinchen.

Meerschweinchen wurden etwa 2 Stunden nach subkutaner Injektion der tödlichen Dosis der 4 Gifte vor Eintritt des Vergiftungstodes durch Nackenschlag getötet. Ihre Organe wurden sofort verarbeitet und auf Ascorbinsäuregehalt geprüft. In der gleichen Weise wurden auch an einer

Anzahl nicht vergifteter Tiere, die unter den gleichen Fütterungsbedingungen gehalten worden waren, Ascorbinsäurebestimmungen in den Organen zur Kontrolle durchgeführt. Zur Beurteilung dieser Versuche ist die Angabe über Mittelwerte und Streuung der Ergebnisse der Normaltiere erforderlich. Diese Angaben bringt Tabelle 2.

Tabelle 2. Ascorbinsäuregehalt der Organe normaler Meerschweinchen in mg%.

Organ	Tiere								Durchschnitt	Durchschnittliche Streuung
	1	2	3	4	5	6	7	8		
Leber	29,8	30,0	33,0	27,8	28,8	30,0	29,7	31,3	30,1	± 1,1
Lunge	27,5	18,3	22,5	24,0	18,3	23,8	25,0	24,5	22,98	± 2,6
Muskel	3,5	3,8	3,2	3,0	2,8	3,3	2,9	3,3	3,2	± 0,25

Die verhältnismäßig geringe Streuung konnte nur dann erzielt werden, wenn streng darauf geachtet wurde, daß den Meerschweinchen stets frisches Gras ad libitum zur Verfügung stand. Jeder Mangel an frischem Gras äußerte sich sofort in einem wesentlich tiefer liegenden Ascorbinsäurespiegel in den Organen. Die von uns gefundenen Vitamin C-Werte stimmen mit den von anderen Autoren gefundenen überein [z. B. Wacholder (16)].

Die Ergebnisse bei den akut vergifteten Tieren sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Ein Vergleich ergibt, daß bei der akuten Vergiftung in keinem Organ eine sichere Verminderung des Ascorbinsäuregehaltes erzielt wurde.

Tabelle 3. Ascorbinsäuregehalt der Organe akut vergifteter Meerschweinchen in mg%.

Organ	Nitrittier	Ferricyanidtier	Anilintier	Chlorattier
Leber	29,2	26,9	27,5	30,1
Lunge	21,0	25,0	25,0	22,0
Muskel	2,9	3,2	3,0	2,5

b) Chronische Vergiftung vitamin C-frei ernährter Meerschweinchen.

Je eine Gruppe vitamin C-frei ernährter Tiere (je 5 Stück) bekam täglich eine Injektion von der in den Vorversuchen ermittelten nicht letalen Dosis der 4 Methämoglobinbildner. Eine 5. Gruppe vitamin C-frei ernährter Meerschweinchen - die Vergleichstiere — erhielt täglich eine Injektion physiologischer Kochsalzlösung. Von diesen Versuchs- und Vergleichstieren wurde in bestimmten zeitlichen Abständen eine Anzahl durch Nackenschlag getötet und ihre Organe auf Ascorbinsäuregehalt untersucht. Auf diese Weise erhält man einen Einblick in das Verhalten des Ascorbinsäurespiegels während der Skorbutkost.

Bei den Vergleichstieren konnten wir in voller Übereinstimmung zu Wacholder (16) feststellen, daß die Ascorbinsäurewerte sofort nach Be-

ginn der Skorbutkost abfallen und daß dieser Abfall in den ersten Tagen am stärksten ist. Wenn nun unter dem Einfluß von Methämoglobinbildnern mehr Vitamin C verbraucht würde, müßte sich dies in einem steileren Absinken des Ascorbinsäurespiegels, also in einem früheren Eintritt niedriger Vitamin C-Werte äußern. Es ist anzunehmen, daß Unterschiede zur Zeit des stärksten Ascorbinsäureabfalls am deutlichsten auftreten. Wir haben daher den Vitamin C-Spiegel 24, 48 und 72 Stunden nach Beginn der Skorbutkost zum Teil in mehreren Versuchsreihen untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengestellt, wobei neben den Versuchstieren auch die Vergleichstiere (NaCl-Injektion) aufgeführt sind.

Tabelle 4. Ascorbinsäuregehalt der Organe chronisch vergifteter und nicht vergifteter Meerschweinchen.

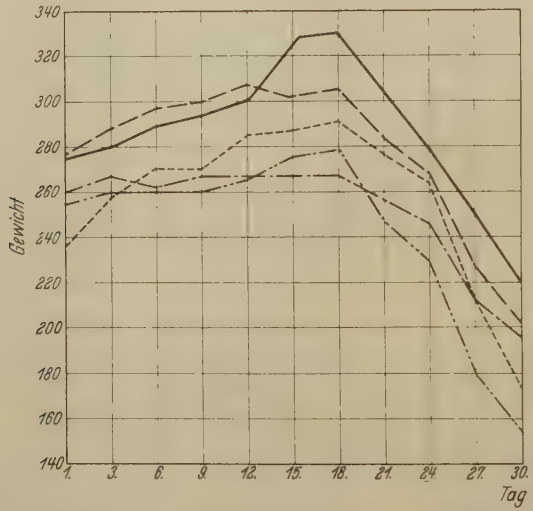
Organe	24 Stunden nach Beginn der Skorbutkost					48 Stunden nach Beginn der Skorbutkost					72 Stunden nach Beginn der Skorbutkost				
	NaCl-Tier	Nitrittier	Cyanidtier	Chloratttier	Anilintier	NaCl-Tier	Nitrittier	Cyanidtier	Chloratttier	Anilintier	NaCl-Tier	Nitrittier	Cyanidtier	Chloratttier	Anilintier
Leber	9,4	9,4	7,0	7,8	9,5	6,3	7,8	6,2	6,0	7,8	4,1	4,1	3,9	3,15	3,6
						7,9	6,1	5,9	6,1	5,8	3,1	3,9	3,0	4,0	3,3
						9,1	9,2	8,8	8,1	9,0	4,2				
						6,5					3,0				
						9,2									
Durchschnitt:						7,8	7,7	7,0	6,8	7,6	3,6	4,0	3,5	3,6	3,5
Lunge	4,3	5,0	5,8	3,3	5,0	5,0	6,0	4,5	5,0	5,3	2,7	3,2	1,8	1,8	2,7
						6,8	4,9	5,0	4,7	4,4	2,2	2,5	2,2	2,7	1,9
						5,5	6,2	4,8	6,5	7,1	2,5				
						4,8					2,0				
						6,0									
Durchschnitt:						5,6	5,7	4,8	5,4	5,6	2,4	2,9	2,0	2,3	2,3
Muskel	3,5	3,5	3,5	2,7	2,8	2,3	2,3	2,0	2,3	2,0	0,9	0,9	0,7	0,3	0,6
						2,0	1,7	0,6	1,8	2,0	0,9	0,4	0,8	0,8	0,6
						2,0	2,4	1,8	1,8	1,9	0,2				
						2,0					0,5				
						2,5									
Durchschnitt:						2,2	2,1	1,5	2,0	2,0	0,6	0,7	0,7	0,6	0,6

Als Ergebnis dieser Versuche kann festgestellt werden: Es bestanden zu den verschiedenen Zeitpunkten keine wesentlichen Unterschiede in den Ascorbinsäurewerten zwischen Versuchs- und Vergleichstieren, wenn man die Streuungsbreite berücksichtigt. Ferner zeigt kein Organ eine Sonderstellung.

Dieses Verhalten der Ascorbinsäurewerte findet in dem allgemeinen Verlauf der Skorbutentwicklung bei den restlichen Tieren der Versuchsreihe eine Bestätigung. Das durchschnittliche Gewicht der einzelnen

Tiergruppen nahm sowohl bei den vergifteten wie bei den NaCl-Tieren bis zum 18. vitamin C-freien Tage zu. Von dem Zeitpunkt an begann bei allen gleichmäßig die Gewichtsabnahme. Wir erhielten dabei die in Kurve 2 wiedergegebenen Gewichtskurven der einzelnen Meerschweinchengruppen.

Skorbuterscheinungen traten bei den vergifteten wie bei den Vergleichstieren vom 26. vitamin C-freien Tage an auf in Form von auffallendem Nachlassen der Bewegungsfreudigkeit, stumpfem Dasitzen, struppigem Fell und Unlust zum Fressen. Am 27. Tage starb eine Reihe von Tieren. Die Todesfälle verteilten sich ungefähr gleichmäßig auf die Versuchs- und Vergleichstiere. Daraufhin wurden die noch Überlebenden getötet. In ihren Organen waren keine mittels Methylenblau nachweisbaren Reduktionswerte mehr vorhanden. Die Sektion der



Zeichenerklärung: · — · Nitrittiere, — · · — · · — Ferricyanidtiere, — — — Anilintiere, — · — · — Chlorattiere, - - - - - Vergleichstiere.

Abb. 2. Gewichtskurven der chronisch vergifteten Skorbuttiere und der Vergleichstiere (Mittelwerte von je 3 bis 4 Tieren).

verstorbenen und getöteten Tiere ergab den typischen Skorbutbefund: Knochenbrüchigkeit, Verdickungen an der Knochenknorpelgrenze der Rippen, Blutungen in Magen und Darm und lockere Schneidezähne.

Zusammenfassend ist also festzustellen, daß sich keine Einwirkung der untersuchten Methämoglobinbildner auf den Ascorbinsäuregehalt nachweisen läßt. Dies steht im Gegensatz zu den In-vitro-Versuchen von A. Drescher (5), bei denen Vitamin C-Verlust auftrat. Es ist daher anzunehmen, daß die Ascorbinsäure im lebenden Tier vor dem an sich möglichen Zugriff der Methämoglobinbildner geschützt ist. Es liegt nahe, das in vielen Geweben in großer Menge vorkommende Glutathion für diesen

Schutz verantwortlich zu machen. Dann müßte jedoch eine Abnahme des reduzierten Glutathions unter der Einwirkung von Methämoglobinbildnern nachweisbar sein.

III. Die Wirkung von Methämoglobinbildnern auf das reduzierte Glutathion.

a) Versuche in vitro.

Vor den Tierversuchen schien es wünschenswert, zu prüfen, ob das Glutathion in vitro die Ascorbinsäure vor der Oxydation durch Methämoglobinbildner zu schützen vermag.

Zunächst konnten wir feststellen, daß Zusatz von Natriumnitrit und Natriumferricyanid in geeigneten Mengen bei Zimmertemperatur sofort das Glutathion oxydierte. Erfolgte der Zusatz von Natriumnitrit in steigenden Mengen zu einer Glutathionlösung unter den gleichen Bedingungen, aber unter gleichzeitigem Zusatz von Ascorbinsäure, so wurde das Glutathion entsprechend den steigenden Nitritmengen zunehmend zerstört, während die Ascorbinsäure erst angegriffen wurde, wenn kein Glutathion mehr vorhanden war. Glutathion bedeutet also auch gegenüber den Methämoglobinbildnern einen Schutz für die Ascorbinsäure.

Ein Beispiel für die Anordnung des Versuches sei kurz angegeben: Es wurden gleiche Mengen einer bei p_H 7,3 gepufferten 14 mg%igen Ascorbinsäurelösung, die 49,1 mg% Glutathion enthielt, nach Zusatz von steigenden Mengen einer 0,005%igen Natriumnitritlösung titriert. Wir erhielten die Ergebnisse von Tabelle 5.

Tabelle 5. Titrationsergebnis einer Ascorbinsäurelösung, die Glutathion enthielt, unter Zusatz von steigenden Mengen Nitrit (0,005%).

ccm Natriumnitrit	ccm Jodat Glut. + Asc.	ccm Methylenblau Asc. allein	ccm Jodat	
			Glut. allein	Asc. allein
0,00	3,2	2,8	1,6	1,6
0,25	2,3	2,8	0,7	1,6
0,50	1,5	2,6	0,0	1,5
0,75	1,0	2,0	0,0	1,1

b) Versuche in vivo.

Der Glutathiongehalt von Organen normaler Meerschweinchen wurde ermittelt und verglichen mit dem Gehalt der Organe von Meerschweinchen, die akut mit Methämoglobinbildnern vergiftet worden waren. Die Dosierungen waren die gleichen wie bei den Ascorbinsäurebestimmungen.

Weitere Analysen wurden an den für die Ascorbinsäurebestimmung verwendeten Skorbuttieren ausgeführt. Die Bestimmungen wurden hier am 3. vitamin C-freien Tage und kurz vor dem Skorbuttode durchgeführt. Die Ergebnisse beider Versuchsreihen sind in Tabelle 6 aufgenommen worden zusammen mit den Werten der Normaltiere.

Tabelle 6. Glutathiongehalt normaler, akut und chronisch vergifteter Meerschweinchen in mg%.

Organ	Normale Tiere	Akut mit Nitrit vergiftete Tiere	Chronisch vergiftete Tiere: nach 3tägiger Vergiftung: Na Cl-Tier	Nitrittier	Cyanidtier	Chloratttier	Anilintier	kurz vor dem Skorbuttode: Na Cl-Tier	Nitrittier	Cyanidtier	Chloratttier	Anilintier
Leber	337,7	276,8	320,0	365,2	338,7	314,7	370,6	307,0	353,1	317,1	253,1	350,0
	396,0	337,7	375,0					337,7		345,4	368,4	
	309,0		363,6							376,1		
	353,0											
Mittelwert:	348,9	306,3	352,9					322,3		346,2	360,9	
Lunge	188,5	75,2	115,0	130,0	122,5	117,3	135,0	115,1	122,0	122,8	107,5	131,0
	138,2	138,2	129,2					107,5		125,9	125,9	
	115,1		150,0							122,5		
	107,5											
Mittelwert:	137,3	106,7	131,4					111,3		123,7	116,7	
Muskel	52,2	38,4	50,0	48,1	60,7	53,6	59,2	55,3	50,7	46 1	58,5	57,3
	49,2	46,1	53,4					58,3		61,4	61,1	
	54,2		45,7							55,3		
	61,1											
Mittelwert:	54,2	42,3	49,7					56,8		54,3	59,8	

Als Ergebnis kann festgestellt werden, daß weder durch die vitamin C-freie Ernährung, noch durch die akute oder chronische Behandlung mit den 4 Methämoglobinbildnern eine deutliche Beeinflussung der Glutathionwerte erzielt wurde. Die gefundenen Einzelwerte lagen jeweils im Bereiche der üblichen Streuung.

Die auffallende Tatsache, daß der Glutathionbestand im akuten und chronischen Versuche nicht angegriffen wurde, obwohl das Glutathion eine besonders leicht oxydable Substanz ist, verlangt eine weitere Klärung. Wie die schon oben erwähnten Methämoglobinmengen, die bei der chronischen Vergiftung täglich gebildet wurden (bei Nitrittieren 40%, bei Anilintieren 15%), zeigen, fanden erhebliche Oxydationswirkungen am Hämoglobin statt, die bei den akuten Vergiftungen natürlich entsprechend der höheren Giftdosis noch viel größer waren. Es schien nun möglich, daß das oxydierte Glutathion (Glutathionid) im intermediären Stoffwechsel sehr schnell zur Thiolform zurückreduziert wird, so daß vielleicht nur eine vorübergehende Abnahme des Glutathiongehaltes eintritt, die unter unseren Versuchsbedingungen nicht zum Ausdruck kommen konnte. Wir wandten daher noch eine weitere Versuchsanordnung an, um nach Möglichkeit den zeitlichen Ablauf der Verhältnisse an einem Tier studieren zu können.

c) Die Wirkung des Nitrits auf den Glutathiongehalt des Blutes an der Katze.

Einer narkotisierten (Avertin-Äther) Katze spritzten wir 20 mg Natriumnitrit pro kg subkutan und bestimmten den Glutathiongehalt des Blutes vor der Injektion und 10, 20, 30, 60 und 90 Minuten nach der Injektion. Dabei fanden wir, daß der Glutathiongehalt trotz steigenderNitritwirkung – der Methämoglobingehalt des Blutes war zu den entsprechenden Zeiten 12, 19, 27, 44 und 54 % – dem des unvergifteten Blutes gleich blieb. In einem anderen Versuche spritzten wir einer Katze 15 mg/kg Nitrit intravenös und untersuchten den Glutathiongehalt des Blutes vor und 1, 3, 5, 10 und 20 Minuten nach der Injektion. Der Glutathiongehalt war nach 1, 3 und 5 Minuten gleich dem vor der Injektion; nach 10 Minuten war er um 15,4 % und nach 20 Minuten sogar um 69,2 % gestiegen.

Diese Steigerung des Glutathionspiegels stellt vielleicht eine Parallele zu der Angabe von Gabbe dar (17), nach der der Glutathionspiegel im Blute zunimmt bei Anämien, auch bei Aderlässen, Blutgiften und ähnlichem. Der Blutverlust der Versuchskatze war ja auch durch die häufigen Blutentnahmen (jeweils 6 ccm) erheblich. Ein Absinken des Glutathiongehaltes konnte dagegen auch nicht vorübergehend gefunden werden.

Erörterung der Befunde.

Die Untersuchung war von der Vorstellung ausgegangen, daß die Zufuhr von methämoglobinbildenden Giften im Organismus zu oxydativen Eingriffen in den Bestand der physiologischen Reduktionsmittel führen könne. In ähnlicher Weise ist z. B. von Bersin, Raabe, Lauber (18) an Katzen nach intravenöser Injektion von 4 %igen Chlorsilbersuspensionen eine Verminderung des Ascorbinsäurebestandes erzielt worden (experimenteller akuter Skorbut). In ihren Versuchen konnten die Autoren dabei auch histochemisch an den Stellen des natürlichen Ascorbinsäurevorkommens die erfolgte Silberreduktion nachweisen.

In unseren Versuchen mit 4 verschiedenen Methämoglobinbildnern trat aber weder bei akuter noch bei chronischer Vergiftung ein Verlust an Ascorbinsäure in Leber, Lunge und Muskel ein. Die einfachste Erklärung für diese Tatsache wäre wohl darin zu sehen, daß die Oxydationen zunächst vorwiegend das Hämoglobin in der Blutbahn angreifen mögen, wobei der Blutfarbstoff also die Giftwirkung gewissermaßen auf sich ablenken würde und eine Schutzfunktion für andere Zellbestandteile übernehmen könnte. In dieser Richtung könnten auch Befunde von A. Drescher (5) zur Deutung herangezogen werden. Bei ihren Versuchen vermochte nämlich der Zusatz von Erythrocyten oder Hämoglobin in vitro die Oxydation der Ascorbinsäure durch Nitrit bei geeigneten quantitativen Verhältnissen zu hemmen.

Diese naheliegende Deutungsmöglichkeit ist aber doch nicht richtig. Eine Ablenkung auf den Blutfarbstoff kommt z. B. bei dem Ferricyanid

gar nicht in Frage, weil diese Substanz gar nicht durch die Membran der Blutkörperchen hindurch an das Hämoglobin herankommen kann. Trotzdem tritt nach ihrer Injektion keine Verminderung im Ascorbinsäurebestand ein. Man könnte auch darauf verweisen, daß bei der Nitritvergiftung von Meerschweinchen viel größere Giftmengen zugeführt werden, als dem gebildeten Methämoglobin bei Annahme der einfachsten chemischen Umsetzungen entspricht.

Eine weitere Annahme, daß ein anderes wichtiges Reduktionssystem des Organismus, das Glutathion, welches ein höheres Reduktionspotential als Ascorbinsäure besitzt und zu deren Stabilisierung gegen Oxydationen auch in In-vitro-Versuchen Verwendung findet, auch die Ascorbinsäure in vivo gegen oxydierend wirksame Methämoglobinbildner schützen kann, erwies sich gleichfalls als unbegründet. Der Glutathionbestand der Organe war weder bei akuter noch bei chronischer Vergiftung vermindert, auch nicht derjenige des Blutes (vgl. Katzenversuche).

Es ist bekannt, daß die Methämoglobinreduktion im Organismus verhältnismäßig schnell verläuft. Von Warburg (19) und neuerdings von Schapott (20) ist dafür vor allem eine Beteiligung von reduzierenden Abbaustufen des Kohlehydratstoffwechsels verantwortlich gemacht worden. Die Beteiligung dieser intermediären Stoffwechselprodukte ist auch für die physiologisch erforderliche Rückreduktion der Disulfidgruppe im Glutathiol-thionid- und Cystein-Cystin-System von verschiedenen Autoren (21) angenommen worden. Danach soll die Wiederherstellung des hohen Reduktionspotentials dieser Systeme durch eine fermentativ katalytisch geleitete H-Übertragung zustande kommen. Es schien zunächst möglich, daß diese physiologischen Vorgänge vielleicht auch die neben der Methämoglobinbildung angegriffenen Ascorbinsäure- und Glutathionbestände wieder herzustellen vermöchten. Die oben beschriebenen Versuche an Katzen, denen fortlaufend Blutproben zur Analyse des Glutathiongehaltes und des Methämoglobinspiegels entnommen wurden, zeigten aber, daß trotz steigender Methämoglobinbildung selbst in den ersten 10—20 Minuten der Nitritvergiftung kein Verlust an Glutathion stattfindet. In dieser Zeit hätte sich aber ein wirklicher Verlust an dem ersten Angriffspunkt einer oxydativen Reaktion äußern müssen.

Wir sind zur Zeit noch nicht in der Lage, zu erklären, warum die an sich empfindlichen Reduktionssysteme des Organismus durch die Zufuhr von Oxydationsmitteln nicht angegriffen werden oder in welcher Weise etwaige Rückreduktion von schnellstem Ausmaß erfolgen kann. Wir müssen uns mit der praktisch wichtigen Feststellung begnügen, daß die methämoglobinbildenden Gifte ihren Angriffspunkt anscheinend auf das Hämoglobin beschränken. Ob sich dabei katalytische Vorgänge oder chemische Kettenreaktionen abspielen, die überhaupt keine größeren oxydativen Umsetzungen erfordern, wäre noch weiter zu klären. Heubner (1) hat schon mehrfach auf solche Möglichkeiten hingewiesen. Es

kann z. B. auch für das Kaliumchlorat noch daran erinnert werden, daß dieser Stoff nach älteren Literaturangaben selbst – trotz erfolgter Methämoglobinbildung – quantitativ fast unvermindert ausgeschieden wird.

Mit solchen Vermutungen würde es vielleicht auch übereinstimmen, daß es kaum gelingt, durch Injektion von starken Reduktionsmitteln wie Ascorbinsäure, Glutathion usw. eine sichere Verhütung der Methämoglobinbildung in vivo zu erreichen (vgl. Heite, unveröffentlichte Versuche). Dabei spielt freilich die vielleicht unzureichende Eindringungsfähigkeit dieser Stoffe in die Erythrocyten eine Rolle. Hauschild (22) hat nämlich für einen anderen Stoff, Thionin, dessen Oxydationspotential niedriger als das des Methämoglobins liegt und der durch die Erythrocytenmembran zu dringen vermag, eine schnelle Reduktion des Methämoglobins erzielt, die sich auch bei Vergiftungen bewährte.

Zusammenfassung.

Die Auswertung alter Versuche mit Ferricyanid sowie quantitative Überlegungen ließen vermuten, daß Methämoglobinbildner neben dem Hämoglobin noch an anderer Stelle im Körper oxydierend wirken.

Der Ascorbinsäuregehalt in Lunge, Leber und Muskel von akut mit Natriumnitrit, Anilin, Natriumchlorat und Natriumferricyanid vergifteten Meerschweinchen nimmt nicht ab.

Der Ascorbinsäuregehalt chronisch vergifteter, vitamin C-frei ernährter Meerschweinchen nimmt nicht schneller ab als bei entsprechenden Vergleichstieren.

Skorbuterscheinungen treten bei chronisch vergifteten vitamin C-frei ernährten Meerschweinchen zu gleicher Zeit und in gleicher Form auf wie bei den Vergleichstieren.

Glutathion vermag im Reagensglas die Ascorbinsäure vor der Oxydation durch Nitrit zu schützen.

Der Glutathiongehalt der Organe akut oder chronisch vergifteter Meerschweinchen ändert sich nicht.

Der Glutathionspiegel im Blute von Katzen nimmt nach Nitritinjektion auch während ansteigender Methämoglobinwerte nicht ab.

Bei Oxydationen, die Methämoglobinbildner noch neben dem Hämoglobin ausüben könnten, werden die Redoxsysteme Vitamin C und Glutathion nicht nachweisbar betroffen.

Die Untersuchung wurde mit freundlicher Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung der Westf. Wilhelms-Universität ausgeführt, der an dieser Stelle der Dank ausgesprochen sei.

Literatur.

1) Heubner, W.: Erg. Physiol. usw. **43**, 15 (1940). — 2) Issekutz, v., jun.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 562 (1939). 3) Jung, Fritz: Persönliche Mitteilungen. — 4) Pieper: Diss. Münster, unveröffentlicht. — 5) Drescher, A.: Diss. Münster, unveröffentlicht. — 6) Kunkel, A. J.: Hdb. Toxikol., Jena 1899, S. 512. — 7) Demole: Z. Vitaminforsch. (Schwz.) **3**, 89 (1934). — 8) Martini u. Bonsignore: Biochem. Z. **273**, 170 (1934). 9) Fujita u. Ebihara: Ebenda **290**, 175 (1937). — 10) Hinsberg, K.: Ebenda **290**, 125 (1937). — 11) Wacholder, K.: Ebenda **295**, 237 (1938). — 12) Neuweiler: Klin. Wschr. **1936**, I, S. 855. — 13) Fujita u. Numata: Biochem. Z. **299**, 249 (1938). — 14) Fujita, Ebihara u. Numata: Ebenda **301**, 245 (1939). — 15) Heite: Unveröffentlicht. — 16) Wacholder, K.: Pflügers Arch. **241**, 375 (1939). — 17) Gabbe: Luftfahrtmedizin **2**, 188. — 18) Bersin, Raabe, Lauber: Klin. Wschr. **1938**, S. 1014. — 19) Warburg, Kubowitz u. Christian: Biochem. Z. **221**, 496 (1930). — 20) Schapott, W. S.: Zitiert nach Ber. ges. Physiol. u. Pharmakol. **110**, 591 (1939). — 21) Vgl. Wels: Klin. Wschr. **1939**, S. 599. — 22) Hauschild, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 458 (1937).

Aus der Medizinischen Klinik und dem Pharmakologischen Institut der Universität Lund (Schweden).

Über den Citronensäuregehalt und den Sauerstoffverbrauch verschiedener Muskeln.

Von

Nils Alwall.

(Eingegangen am 9. Februar 1941.)

Nachstehend wird über eine Untersuchung des Citronensäuregehaltes einiger Muskeln des Kaninchens berichtet. Die Muskeln wurden aus dem narkotisierten Tier herausgeschnitten und in Kohlensäureschnee eingebettet, so daß zwischen dem Abbruch der Zirkulation und dem Einfrieren nur eine möglichst geringe Zeitspanne verging. Der Citronensäuregehalt (Ci) wurde darauf nach der Pentabrom-Aceton-Methode in Trichloressigsäureextrakt bestimmt.

Die gefundenen Ci-Werte werden mit früheren vom Verfasser ausgeführten Bestimmungen des Sauerstoffverbrauchs der betreffenden Muskeln in vitro Alwall (1) verglichen und die Ergebnisse in Hinsicht auf die physiologische Bedeutung des Ci der Muskeln erörtert.

Methodik.

Kaninchen von etwa 2—2,5 kg Gewicht wurden, ohne vorher gefastet zu haben, durch subcutane Injektion von 1,25 g Urethan pro kg narkotisiert. Nach etwa 2 Stunden wurde das Kaninchen auf den Präpariertisch geschnallt. Falls notwendig, wurde beim Präparieren noch eine leichte Äthernarkose gegeben. Die zur Untersuchung bestimmten Muskeln und die Arteria carotis wurden freigelegt. Dann wurde die Muskulatur so schnell wie möglich herausgeschnitten, durch Ausdrücken zwischen Kompressen vom Blut befreit, Bindegewebe und gröbere Fascien wurden schnell entfernt, worauf der Muskel in einige kleinere Stücke zerschnitten und in Kohlensäureschnee eingebettet wurde. So wurde das Gewebe aufbewahrt, bis es, nachdem es gewogen worden war, in Trichloressigsäure gelegt und zwecks Extraktion im Mörser zusammen mit Sand zerkleinert wurde. Der Ci des Extraktes wurde nach der Pentabrom-Aceton-Methode, Pucher, Sherman und Vickery (2), bestimmt.

Zuerst wurde die Muskulatur an der Vorderseite des Oberschenkels herausgeschnitten, hauptsächlich rote Muskulatur, dann die Massetermuskulatur. Während das Herausschneiden der ersteren Muskulatur nur eine leichte Blutung verursachte, war der Blutverlust beim Herausnehmen des Masseters ziemlich beträchtlich. Anschließend wurde eine Blutprobe aus der einen Carotis entnommen sowie in rascher Folge Zunge und Herz herausgeschnitten. Die Muskulatur der Herzventrikel wurde untersucht. Mit dem Messer wurde die Schleimhaut von der gefrorenen Zunge entfernt.

Mårtensson (3) hat den Ci von Herz- und Oberschenkelmuskulatur bestimmt. Sonstige technische Einzelheiten sind bei ihm nachzulesen. Er zeigte u. a., daß der Ci der Gewebe verhältnismäßig schnell abnimmt, sobald es aus der Zirku-

lation herausgenommen wird. Für Muskulatur gilt dies jedoch in geringerem Grade. Auf seine übrigen Befunde komme ich später zurück.

Da die Oberschenkelmuskulatur sich im Mörser schlecht hinreichend zerkleinern läßt, wurde das gefrorene Gewebe in einigen Versuchen in der Buchner-Presse gepreßt und nach dem durch das Pressen bedingten Auftauen sofort wieder gekühlt. Die so gepreßte Muskulatur ließ sich dann leicht im Mörser zusammen mit Sand zerkleinern. Das Gewebe zeigte denselben niedrigen Ci, einerlei, ob es gepreßt worden war oder nicht, weshalb die niedrigen Ci-Werte nicht auf das Konto ungenügender Zerkleinerung oder Extraktion zu setzen sind. Entsprechende Versuche wurden auch mit den übrigen Geweben unternommen.

In den in Tabelle 1 aufgeführten Versuchen ist der Ci in der gesamten Gewebemenge bzw. in gleicher Blutmenge von drei Tieren bestimmt worden, und zwar deshalb, damit die Gewebemenge für die Bestimmung des Ci der Zunge ausreichte.

Tabelle 1.

Versuch Nr.	1	2	3	4	5
Serum, γ Ci/ccm	86	52	54	48	85
Oberschenkelmuskulatur, γ Ci/g	23	19	15	26	37
Zungenmuskulatur, γ Ci/g	—	63	79	72	106
Massetermuskulatur, γ Ci/g	72	59	102	75	104
Herzmuskulatur, γ Ci/g	148	94	148	224	163

Die in Tabelle 2 aufgeführten Versuche betreffen je ein Tier, das 2 bzw. $2^1/_2$ und 3 Stunden vorher nephrektomiert worden war. Die Blutprobe vor der Nephrektomie wurde der Vena jugularis entnommen, die letzte der Arteria carotis.

Tabelle 2.

Versuch Nr.	1	2	3
Serum γ Ci/ccm vor der Nephrektomie	—	76	102
nach der Nephrektomie	238	300	470
Oberschenkelmuskulatur, γ Ci/g	43	44	61
Massetermuskulatur, γ Ci/g	126	151	196
Herzmuskulatur, γ Ci/g	316	359	375

Tabelle 1 verzeichnet die Ci-Werte in Serum und Geweben nichtnephrektomierter Tiere. Der Serum-Ci hat die für das Kaninchen typischen hohen Werte. Unter den übrigen Werten ist der der Oberschenkelmuskulatur am niedrigsten mit einem mittleren Wert von 24 (15—37) γ Ci pro 1 g Gewebe. Zungen- und Massetermuskulatur zeigen gleiche Mittelwerte, nämlich 82 (63—106) bzw. 82 (59—104) γ Ci pro g. Den höchsten Mittelwert zeigt der Herzmuskel, nämlich 155 (94—224) γ Ci pro g.

Trotz des verhältnismäßig kleinen Materials und der großen Streuung der Werte für ein und dasselbe Gewebe in den verschiedenen Versuchsreihen scheint doch der Befund gesichert, daß der Ci der Oberschenkelmuskulatur erheblich unter dem der übrigen Gewebe liegt. Die höchsten Werte dieser Muskulatur fallen nicht mit den niedrigsten der anderen Gewebe zusammen. Der Unterschied ist in allen Versuchsreihen gleicher-

maßen ausgeprägt. Der Ci der Zungenmuskulatur und der des Masseters scheint etwa derselbe zu sein, während der Herzmuskel einen bedeutend höheren Ci hat.

Ähnlich ist der Unterschied in den 3 Versuchen der Tabelle 2, wo der Serum-Ci nach der Nephrektomie stark angestiegen ist. Mittelwerte: Oberschenkelmuskulatur 49 (43—61) γ Ci/g, Masseter 158 (126—196), Herzmuskel 350 (316—375) γ Ci/g Gewebe.

Folgende Befunde erscheinen gesichert: Der Ci der Masseter- und der Zungenmuskulatur ist erheblich höher als derjenige der Oberschenkelmuskulatur. Noch höher ist der Ci des Herzmuskels. Besonders interessant ist der hinsichtlich des Ci der drei erstgenannten Gewebe festgestellte Unterschied, da die betreffenden Gewebe nach Funktion und Struktur gleichartig sind. Die Bedeutung dieses Befundes wird unten erörtert.

Während die übrigen in den Tabellen verzeichneten Serumwerte nach der Pentabrom-Aceton-Methode bestimmt worden sind, wurden die Ci-Werte der Versuche 2 und 3 in Tabelle 2 mittels Thunbergs enzymatischer Methode bestimmt. Diese Werte lassen sich nicht direkt mit den übrigen vergleichen, da bei der chemischen Methode die Citronensäure allein die abgelesene Reaktion bewirkt, während dagegen bei der enzymatischen Methode zugleich auch Cis-aconitinsäure und Isocitronensäure bestimmt werden. Mårtensson (3) fand in einer Reihe von 13 Seren arteriellen Blutes, daß die mit der Pentabrom-Aceton-Methode erhaltenen Werte um 16,5 $\pm$ 2,9% unter denen der Thunberg-Methode liegen.

Da diese Frage für die Problemstellung der vorliegenden Arbeit ohne Interesse ist, sei hier nur erwähnt, daß Mårtensson (3) fand, daß die Ci-Konzentration des Serums die der Blutkörperchen wahrscheinlich um das Fünf- oder Sechsfache übersteigt, was bei einem Serumvolumen von 65% z. B. bedeutet, daß der Ci des Gesamtblutes pro Volumeneinheit etwa 72% des Serum-Ci ausmacht.

Der Ci der Gewebe variiert anscheinend unabhängig vom Ci des Serums. Nach Tabelle 1 ist der Ci der Oberschenkelmuskulatur erheblich niedriger als der des Serums, die Mittelwerte betragen nämlich 24 (19—37) γ Ci/g bzw. 65 (48—86) γ Ci/cm³. Die Ci-Werte für die beiden anderen Muskelsorten zeigen die Tendenz, über dem Serum-Ci zu liegen. Tabelle 4 verzeichnet die relativen Mittelwerte, wobei der Wert der Oberschenkelmuskulatur als Einheit galt: Zungenmuskulatur 3,4, Masseter 3,4, Herzmuskel 6,5 und Serum 2,7. Noch stärker sind die Unterschiede des Ci der verschiedenen Gewebe und des Serums nach der Nephrektomie, die relativen Mittelwerte sind für die Massetermuskulatur 3,2, für den Herzmuskel 7,2 und für das Serum 6,9. Der Serum-Mittelwert ist jedoch im letzteren Fall, verglichen mit den übrigen, ein wenig zu hoch angegeben, da, wie oben bemerkt, die Werte der Versuche 2 und 3 in Tabelle 2 mit der enzymatischen Methode ermittelt sind. Reduziert man die betreffenden Ergebnisse um 15%, so ergibt sich für den Serum-Ci der nephrektomierten Tiere statt dessen der relative Wert 6,0.

Die angeführten Ergebnisse stimmen in den vergleichbaren Punkten mit den von Mårtensson (3) bereits veröffentlichten überein. Mårtensson zeigte u. a.,

daß der Ci des Serums in den ersten Stunden nach der Nephrektomie bei dem narkotisierten Tier stark ansteigt. In zwei angeführten Versuchen am Kaninchen war der Ci pro g Oberschenkelmuskulatur 19,5 bzw. 22,3 γ, und in drei anderen Versuchen, in denen der Serum-Ci durch intravenöse Citronensäurezufuhr auf 325 bzw. 940 und 720 γ gesteigert worden war, wurden die entsprechenden Ci-Werte der Oberschenkelmuskulatur mit 57,7, 64,0 und 50,8 γ ermittelt. In weiteren Versuchen fand Mårtensson für das Herz die Normalwerte 125, 265 und 233 γ Ci/g, nach Steigerung des Serum-Ci durch Zufuhr von Citronensäure auf 325 bzw. 720 die Werte 250 bzw. 320 γ. Auch einige ähnliche Versuche an der Katze teilt er mit. — In einem Kaninchenversuch enthielt die Oberschenkelmuskulatur, $2^1/_2$ Stunden nach der Nephrektomie, 53 γ Ci/g, bei einem Serum-Ci von 260 γ/cm^3.

Die hier angeführten Versuchsergebnisse bestätigen die Schlüsse, die Mårtensson aus seinen Befunden zieht, daß nämlich Citrat schlecht oder gar nicht aus dem Serum in intaktes Muskelgewebe zu dringen vermag. Seine Versuche umfassen, wie bereits erwähnt, an Muskelgewebe nur Oberschenkel- und Herzmuskulatur. Mårtensson geht aber nicht auf die im übrigen in dieser Arbeit vorgelegten Gesichtspunkte ein.

Die in Tabelle 1 und 2 angeführten Werte des Ci der Oberschenkel-, Masseter-, Zungen- und Herzmuskulatur scheinen von speziellem Interesse, wenn sie mit den in Tabelle 3 angeführten Ergebnissen der früher veröffentlichten Untersuchungen Alwalls (1) über den Sauerstoffverbrauch der genannten Muskelgewebe in vitro zusammengestellt werden.

Der Sauerstoffverbrauch wurde nach der Warburg-Methodik bestimmt. In diesem Zusammenhang seien nur die Werte für feinverteiltes Gewebe angeführt. Diese wurden im Phosphatpuffer unter Zusatz von Bernsteinsäure, Milchsäure, Milchsäure + Fumarat oder Muskelkochsaft suspendiert. In Tabelle 3 werden die relativen Werte des Sauerstoffverbrauchs der untersuchten Gewebe angeführt, mit Rücksicht auf die Mittelwerte des O_2-Verbrauchs pro Gewichtseinheit Gewebe angegeben und bezogen auf den gleich 1 angesetzten Verbrauch des Sartorius.

Tabelle 3. Relativer Sauerstoffversuch der feinverteilten Gewebe (Mittelwerte), wenn der Umsatz des Sartorius gleich 1 gesetzt wird*.

Gewebe	Succinat		Lactat		Lactat + Fumarat	Muskelkochsaft
	27°	37°	27°	37°	37°	27°
M. masseter	8,8	4,3	3,1	4,4	4,2	7,4
Herzmuskulatur	8,0	4,1	3,6	3,9	3,7	6,3
Zungenmuskulatur	5,8	3,3	—	3,3	3,3	5,2
Augenmuskel	4,4	—	—	—	—	—
M. plantaris	2,2	1,2	—	—	—	—
M. extensor dig. long.	1,4	1,1	—	—	—	—
Rückenmuskulatur	1,0	—	1,1	1,3	—	—
M. sartorius	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Hinsichtlich der Technik sei nur folgendes angeführt. 0,1—0,2 g feinverteiltes Muskelgewebe wurde in 2,5 cm^3 Donator-Phosphatlösung aufgelöst. Luftatmosphäre.

* Der O_2-Verbrauch (Mittelwerte) des Sartorius war 28, 58, 23, 32 bzw. 15 cmm pro 0,1 g Gewebe und 30 Minuten, 0° 760 mm Hg. — Lit. Alwall (1).

Nach der Einstellung wurde der O_2-Verbrauch 30 Minuten lang bestimmt. Die Versuche wurden teils bei 37°, teils bei 27° ausgeführt. Die Reihen mit der niedrigeren Versuchstemperatur wurden in die Untersuchung einbezogen, da es dadurch möglich wurde, das Material einer anderen Arbeit zu verwerten. Unter den Donatoren wurde Succinat wegen seiner von Thunberg festgestellten Fähigkeit, die Gewebsoxydation in vitro kräftig zu steigern, gewählt. Außer dem Lactat wurde in einer Versuchsreihe 20 mg% Fumarat zugesetzt, um die für die Respiration nach Szent-Györgyi (4) notwendige Menge C_4-Dicarbonsäure zu liefern.

In diesem Zusammenhang werden die Ergebnisse der Versuche mit kleinen Muskeln oder Muskelstreifen (Augenmuskeln, Interosseen und Sartorius) nicht angeführt. Die erstgenannten zeigten den größten Sauerstoffverbrauch.

In sämtlichen in Tabelle 3 angeführten Versuchsreihen haben Herzmuskel und Masseter den größten Sauerstoffverbrauch und zwar etwa einen gleich hohen. Die relativen Werte liegen in den verschiedenen Reihen zwischen 3,6 und 8,0 (Herzmuskel) bzw. 3,1 und 8,8 (Masseter). Nicht viel niedriger ist der Sauerstoffkonsum der Zungenmuskulatur: 3,3—5,8.

Aus Alwalls (1) Arbeit von 1939 seien nur einige Gesichtspunkte von allgemeinem Interesse angeführt. Bei Bestimmungen mit indirekten Methoden hat man früher gefunden, daß das Herz in vivo einen Sauerstoffverbrauch hat, der den Sauerstoffumsatz gewöhnlicher Muskulatur etwa um das Zehnfache übersteigt. Alwall findet somit, besonders in der Succinatreihe, eine gute diesbezügliche Übereinstimmung in vitro.

Von größtem Interesse ist die Tatsache, daß Masseter- und Zungenmuskulatur in vitro eine fast ebenso intensive Oxydation aufweisen wie der Herzmuskel. Auch die Augenmuskulatur hat hohe Werte. In — hier nicht angeführten — Versuchen mit ganzen, nicht feinverteilten Augenmuskeln sowie Streifen von Sartorius in Glykose-Ringer war der relative Sauerstoffverbrauch für den Augenmuskel 2,8 im Verhältnis zu dem des Sartorius.

Alwall (1) hebt hervor, daß es sich diskutieren läßt, inwieweit man die erwähnten Ergebnisse seiner in vitro ausgeführten Versuche auf die Verhältnisse in vitro übertragen kann. Wir kennen ja nicht alle Faktoren, die abgrenzen und bestimmen, ein wie großer Teil der Oxydationskapazität der Muskulatur in Ruhe und Arbeit beansprucht wird. Doch dürfte man zu der Annahme berechtigt sein, daß es nicht bedeutungslos sein kann, daß die genannten kranialen Muskeln im Succinatmedium oder in Muskelkochsaft die Fähigkeit besitzen, einen solchen Umsatz zu entwickeln, der z. B. den des Sartorius um das Vielfache übersteigt. Man dürfte den Schluß ziehen können, daß diese Muskeln auch in vivo einen verhältnismäßig sehr hohen Umsatz haben. Nicht alle quergestreifte Muskulatur ist gleichwertig, man kann die kraniale als die hochwertigste bezeichnen. Angesichts dieser Ergebnisse verstehen wir, warum die Totenstarre im Masseter, mit seiner starken Verbrennung, früh beginnt. Vielleicht ist dies auch eine Erklärung dafür, daß die Myasthenia gravis oft in den Gesichtsmuskeln ihren Anfang nimmt, wo vielleicht der Bedarf an Azetylcholin infolge des starken Umsatzes am größten ist. Vielleicht können uns die besagten Ergebnisse auch zum Verständnis anderer klinischer Phänomene verhelfen.

In Tabelle 4 ist der Ci der untersuchten Gewebe in relativen Zahlen angegeben, wobei der Gehalt der Oberschenkelmuskulatur gleich 1 gesetzt und die Berechnung nach den Mittelwerten der Versuchsreihen in Tabelle 1 bzw. 2 ausgeführt ist. Vergleichshalber ist aus Tabelle 3 außerdem der relative Sauerstoffverbrauch beigefügt. In der Spalte „Skeletmuskulatur“

Tabelle 4. Zusammenstellung der Ergebnisse aus Tabelle 1, 2 und 3.

Gewebe	Relativer Ci-Gehalt		Relativer O_2-Verbrauch in verschiedenen Medien
	Normaltiere	nephrektomierte Tiere	
Skeletmuskulatur	1,0	1,0	1,0
Zungenmuskulatur	3,4	—	3,3—5,8
Massetermuskulatur	3,4	3,2	3,1—8,8
Herzmuskulatur	6,5	7,2	3,6—8,0
Serum	2,7	6,0	—

handelt es sich hinsichtlich des Ci um Oberschenkelmuskulatur, hinsichtlich des Sauerstoffverbrauchs um M. sartorius. Der letztgenannte Muskel ist weiß, der Querschnitt durch die Oberschenkelmuskulatur, in welchem der Ci bestimmt worden ist, enthält auch rote Muskulatur. Die rote Muskulatur hat einen höheren Sauerstoffverbrauch als die weiße, was von einer gewissen Bedeutung ist, wenn im folgenden das Verhältnis Ci—Sauerstoffverbrauch verglichen wird.

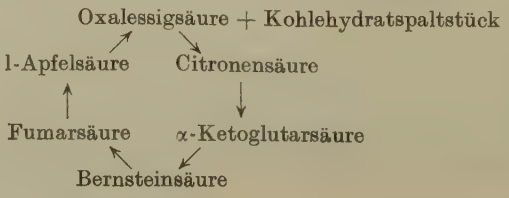
In Tabelle 4 finden wir folgende relative Werte für den Ci bzw. den Sauerstoffverbrauch: Zungenmuskulatur 3,4 bzw. 3,3—5,8, Masseter 3,2—3,4 bzw. 3,1—8,8 und Herzmuskulatur 6,5—7,2 bzw. 3,6—8,8. Besonders geeignet sind für den nachstehenden Vergleich in diesem Zusammenhang die zwei erstgenannten Gewebe, da sie nach Struktur und Funktion gleichartig sind, während der Herzmuskel aus vielen Gesichtspunkten eine Sonderstellung einnimmt.

Die relativen Werte des Citronensäuregehalts und Sauerstoffverbrauchs der untersuchten Gewebe zeigen eine auffallende Übereinstimmung.

Dies ist möglicherweise damit zu erklären, daß der Citronensäuregehalt einen bestimmenden Einfluß auf die Größe der Gewebsoxydation ausübt. Wir versuchen hier, die Befunde mit Hilfe der Krebsschen Citronensäurecyclustheorie zu erklären.

In der von Szent-Györgyi (4) aufgestellten Theorie über den Ablauf des intermediären Stoffwechsels spielen die C_4-Dicarbonsäuren eine große Rolle, besonders die Fumarsäure und Bernsteinsäure in Verbindung mit ihren spezifischen Dehydrogenasen. Die Systeme Fumarsäure-Bernsteinsäure und Oxalessigsäure-Fumarsäure stehen im Vordergrund.

In Anlehnung an Szent-Györgyis Schemata hat Krebs u. a. (5—8) seine Citronensäurecyclustheorie aufgestellt [siehe weiter Knoop und Martius (9), sowie Martius (10)]. Nach dieser Theorie würde der Abbau der Kohlehydrate im intermediären Stoffwechsel nach folgendem Schema stattfinden:



In den festen Cyclus wird ein nicht näher definiertes Kohlehydratspaltprodukt (eine Triose oder entsprechende Verbindung) eingeführt. Aus diesem und Oxalessigsäure wird Citronensäure synthetisiert. Im Zusammenhang mit dem Abbau der Citronensäure, der in einem festen Cyclus verlaufen soll, wo das eine Enzymsystem in das andere eingreift, soll das bei der Citronensäuresynthese hineinkommende Kohlehydrat vollständig verbrannt werden. Nach vollendetem Cyclus steht die Oxalessigsäure für die Synthese eines neuen Citronensäuremoleküls unter Addition des neuen Kohlehydratspaltstücks zur Verfügung. Während dieses Kreislaufs wird Wasserstoff abgespalten, der sich mit Sauerstoff zu H_2O vereinigt, sowie CO_2.

Krebs und Eggleston (7) haben gefunden, daß Insulin die Sauerstoffaufnahme feinverteilter Muskulatur nur in Gegenwart von Citronensäure oder Muskelkochsaft, noch besser beider, steigert. Sie vermuten, daß das Insulin auf irgendeiner Stufe des Citronensäurecyclus als Katalysator eingreift. Dies wird angeführt, um die Bedeutung zu beleuchten, die gewisse Forscher der Citronensäure für die Gewebsoxydation beimessen. Damit ließen sich die in dieser Arbeit vorgelegten Ergebnisse in einen größeren biologischen Zusammenhang einfügen.

Es sei bloß summarisch erwähnt, daß Stadie, Zapp und Lukens (11) die von Krebs und Eggleston (7) vorgelegten Resultate nicht haben bestätigen können. Auch ist die ganze Citronensäurecyclustheorie starker Kritik ausgesetzt worden, besonders von Breusch (12), Banga, Ochoa und Peters (13), sowie Thomas (14).

In der reichen Literatur über die einschlägigen Cyclustheorien hat man übersehen, daß ein ähnliches Schema, auf dem Bernsteinsäurecyclus fußend, schon 1927 von Ahlgren (15) vorgelegt worden ist.

Es muß einstweilen dahingestellt bleiben, inwieweit die festgestellte Kongruenz zwischen dem Citratgehalt der Gewebe in vivo und ihrer Oxydationskapazität in vitro durch einen engeren Zusammenhang Citronensäure—Gewebsoxydation bedingt ist. Nach der umstrittenen Citronensäurecyclustheorie ist es wohl denkbar, daß eine größere Oxydation eine größere Kapazität des Cyclussystems erfordert, und möglich, daß man größere Mengen des intermediären Produkts Citronensäure bei größerer Oxydationskapazität des Gewebes vorfindet.

Es sind indessen auch andere Erklärungsmöglichkeiten in Betracht zu ziehen.

Nach Mårtensson (3) soll sich in der Muskulatur Citronensäure bilden. Denn der Ci des Serums steigt bei einem eviszerierten Tier ebenso wie der Ci der Perfusionsflüssigkeit bei Durchspülung des Hinterkörpers. Der Ci des venösen Abflusses ist höher als der des arteriellen Zuflusses. Indessen kann in diesen Versuchen, wie Mårtensson selbst hervorhebt, Citronensäure aus dem Skelet kommen, das nach Dickens (16) nicht weniger als 1% Citronensäure in trockener, entfetteter Skeletsubstanz enthält. Thunberg (persönliche Mitteilung) hat nicht nur Dickens Befunde bestätigen können, sondern bis zu 2% Citrat im Skelet gefunden.

Wenn sich in der Muskulatur wirklich Citrat bildet, so besteht die Möglichkeit, daß in Muskeln mit stärkerer Gewebsatmung noch mehr Citrat gebildet wird. Doch hat man auch damit zu rechnen, daß die Diffusionsmöglichkeiten zwischen Blut und Gewebe in verschiedenen Muskeln verschieden sein können. Indessen scheint die Citronensäure nur schlecht oder gar nicht aus dem Blut in die Muskulatur eindringen zu können: der Ci der Gewebe ist anscheinend unabhängig vom Ci des Serums.

Die Steigerung des Ci der Muskulatur, die nach Anstieg des Serum-Ci infolge Nephrektomie (oder wie in Mårtenssons Versuchen durch Infusion von Citronensäure ins Blut) eintritt, dürfte sich wohl durch zurückgelassenes Blut, wenigstens was Oberschenkel-, Zungen- und Massetermuskulatur betrifft, erklären lassen. Doch läßt sich die Möglichkeit nicht ausschließen, daß die Nephrektomie auf den Stoffwechsel der Gewebe einwirkt und der Ci dadurch verändert wird.

Zusammenfassung.

Der Citronensäuregehalt (Ci) ist mittels der Pentrabrom-Aceton-Methode in Skelet-, Zungen-, Masseter- und Herzmuskulatur bestimmt worden. Die Gewebe wurden narkotisierten Kaninchen entnommen und sofort mit Kohlensäureschnee gekühlt. Am höchsten ist der Ci der Herzmuskulatur, dann in der Masseter- und Zungenmuskulatur, am niedrigsten in der Skeletmuskulatur. Betrachtet man die Ergebnisse mit früher vom Verfasser veröffentlichten Untersuchungen über den Sauerstoffverbrauch der genannten Gewebe in vitro, so findet man eine auffallende Übereinstimmung zwischen den relativen Werten des Sauerstoffverbrauchs und des Citronensäuregehalts. Die Bedeutung dessen wird besprochen, unter besonderer Berücksichtigung der Krebsschen Citronensäurecyclustheorie.

Literatur.

1) Alwall, N.: Acta med. scand. (Schwd.) **102**, 258 (1939). — 2) Pucher, G. W., S. C. Sherman u. H. B. Vickery: J. biol. Chem. (Am.) **113**, 235 (1936). — 3) Mårtensson, J.: Acta physiol. scand. (Schwd.) **1**, Suppl. II (1940). — 4) Szent-Györgyi, A. v.: Studies on biological oxidation and some of its catalysts. Budapest und Leipzig 1937. — 5) Krebs, H. A., u. W. A. Johnson: Enzymologia **4**, 148 (1937). — 6) Krebs, H. A.: Biochem. J. (Brit.) **32**, 929 (1938). — 7) Krebs, H. A., u. L. V. Eggleston: Ebenda, S. 913. — 8) Krebs, H. A., E. Salvin u. W. A. Johnson: Ebenda, S. 113. — 9) Knoop, F., u. C. Martius: Chem. and Industr. **242**, 1 (1936). — 10) Martius, C.: Hoppe-Seylers Z. **247**, 104 (1937); **257**, 29 (1938); Erg. Enzymforsch. **8**, 247 (1939). — 11) Stadie, W. C., J. A. Zapp u. F. D. W. Luken: J. biol. Chem. (Am.) **132**, 411 (1940). — 12) Breusch, F. L.: Hoppe-Seylers Z. **250**, 262 (1937); Biochem. J. (Brit.) **33**, 1757 (1939). — 13) Banga, I., S. Ochoa u. R. A. Peters: Biochem. J. (Brit.) **33**, 1980 (1939). — 14) Thomas, J.: Enzymologia **7**, 231 (1939). — 15) Ahlgren, G.: Proc. Staff Meet. Mayo Clin. Rochester **3**, 86 (1927). — 16) Dickens, F.: Chem. and Industr. **59**, 135 (1940).

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Medizinischen Fakultät der Universität in Zagreb, Jugoslawien. (Vorstand: Prof. Dr. I. Ivančević.)

Über die Funktion des Sphincter Oddi.

Von

Rudolf Leskovar, Rogaška Slatina.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. September 1940.)

In experimentellen Untersuchungen über das Verhalten der extrahepatischen Gallenwege, bei denen das Hauptaugenmerk auf den Sphincter Oddi (SO) gerichtet war, indem dessen Tonusschwankungen laufend gemessen wurden, trat die Abhängigkeit des SO-Tonus vom Verhalten des Magen-Darmrohrs immer wieder zum Vorschein. Diese Abhängigkeit erscheint nach Abschluß der Untersuchungen, die sich von verschiedenen Gesichtspunkten aus mit dem Problem des SO befaßten, so groß, daß die Bedeutung des eigentlichen, als SO bezeichneten Schließmuskels sehr in den Hintergrund tritt. Bevor auf die Versuchsergebnisse eingegangen wird, soll kurz auf die geteilte Meinung verschiedener Autoren über die funktionelle Bedeutung, die dem an der Papilla Vateri befindlichen Schließmuskel zugesprochen wird, hingewiesen werden (vgl. Babkin[1]). Die einen vertreten die Auffassung, daß durch die anatomische Lage des D. choledochus in der muskelstarken Wand des Duodenums, die er durchbohrt, dieser schlitzartige Endabschnitt funktionell von den Vorgängen der Darmwand abhängig ist. Die anderen neigen der auch morphologisch vertretbaren Ansicht zu, daß dem an der Vaterschen Papille befindlichen Schließmuskel große Selbständigkeit und Unabhängigkeit zukomme. Über das theoretische Interesse hinaus hätte eine Klärung der Anschauungen große praktische Bedeutung, da im Falle, daß das Mündungsgebiet des Gallensystems ausschließlich oder zumindest vorwiegend durch Vorgänge im Magen und Duodenum reguliert wird, auch die Therapie der Gallenerkrankungen ihr Hauptaugenmerk darauf lenken müßte.

Veranschaulicht man sich nun unvoreingenommen nochmals die Komponenten des Kräftespiels am distalsten D. choledochus-Abschnitt, als deren Resultante der Abfluß von Galle ins Duodenum stattfindet oder verhindert wird, so setzt sich die duodenalwärts wirkende Kraft zusammen aus: 1. der Sekretionskraft der Leberzellen (diese erreichte in eigenen Versuchen 300 und 310 mm maximale Steighöhe an je 2 von 4 Kaninchen). 2. Der Kontraktionskraft der Gallenblase; diese kann nach den Befunden anderer Autoren[2, 3] als gering angesehen werden. — Der duodenalwärts

[1] Babkin, B. P.: Die äußere Sekretion der Verdauungsdrüsen. Berlin, Jul. Springer, 1928. — [2] Mc Master u. Elman: J. exper. Med. **44**, 197 (1926). — [3] Brugsch, Th., u. H. Horsters: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **118**, 267 (1926).

gerichteten Kraft können folgende Widerstände entgegengesetzt werden: 1. durch Verengung jenes Teils des D. choledochus, der die Darmwand durchsetzt als Folge peristaltischer oder sonstiger Kontraktionen der Duodenummuskulatur, 2. durch Verengung des an der Papilla Vateri befindlichen SO, 3. durch Widerstände, die sich im Lumen des Duodenums selbst finden. Obwohl ich in der mir zugänglichen Literatur zahlenmäßige Angaben über das Ausmaß der Druckschwankungen im Darmlumen nicht finden konnte, so liegt es doch nahe daran zu denken, daß ein so muskelstarkes Rohr wie der Darm zu großen Innendrucksteigerungen befähigt sein muß. Das gilt besonders für den Duodenumteil, hinter welchem man sich den geräumigen Magen geradezu als starken Blasebalg vorstellen kann mit einer verdichtenden und einer saugenden Phase, vorausgesetzt, daß distalwärts vom Duodenum hermetische Abschlüsse zustande kommen, sei es durch Peristaltik oder mittels des meist vorhandenen flüssigen Inhalts.

Hinzu kommt noch die Erwägung, daß die Papille ins Duodenallumen ragt und somit die Fläche, am Wege welcher der Darminnendruck auf die ventilartige D. choledochus-Mündung im Sinne der Schließung wirkt, vergrößert ist. Bei einer Tonuszunahme der Darmmuskulatur verengt sich auch das Lumen, dessen Innendruck — sofern ein Ausgleich der Druckunterschiede längs des Rohres nicht möglich ist — steigen muß und wie ein Kissen vom Lumen aus auf die Darmwand und den darin verlaufenden D. choledochus-Teil abplattend wirkt.

Während eine große Zahl von Arbeiten vorliegt, die die unter 1. und 2. angeführten Fragen beleuchten, so ermöglichen die meist angewandten Methoden keine Antwort auf die 3. Frage.

Denn als die gebräuchlichste Methode der Forscher gibt Babkin in seiner zusammenfassenden Darstellung Methoden an, bei denen das Duodenum zwecks Beobachtung der Vaterschen Papille eröffnet wird.

Trotzdem liegen auch verschiedene Beobachtungen vor, die ebenfalls als Beweis für die Bedeutung des Drucks im Magendarmlumen für den SO-Tonus herangezogen werden können. Reach[4] maß die Flüssigkeitsmengen (in gleichen Zeiteinheiten), die mittels einer Bürette unter konstantem Druck durch den D. choledochus ins Duodenum flossen. Er fand, daß die Füllung des Magens mit starker Zunahme des SO-Tonus einherging, seine Entleerung dagegen mit noch ausgesprochenerer Erschlaffung und führt dies auf einen Reflex zurück. „Diese Wirkung auf den Sphincter tritt, wie andere Versuche zeigen, auch dann ein, wenn man die Füllung des Magens statt mit Wasser mit Luft vornimmt." — Auch Brugsch und Horsters[5] wandten eine im Wesen ähnliche Methode an, nur wurde ein 3 cm langer Abschnitt des Dudenums proximal und distal von der Papille ganz abgeschnürt und mittels einer in diesen Duodenalsack reichenden Kanüle die Darmperistaltik kymographisch registriert. Das Augenmerk dieser Autoren war auf die Abhängigkeit des SO-Widerstandes vom Darm-

[4] Reach, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **85**, 178 (1920). — [5] l. c.

wandtonus gelenkt. Sie fanden, daß Stoffe, die den Darmtonus erhöhen (untersucht wurden Pilokarpin, Azetylcholin, Hypophysin) keinen Einfluß auf den SO-Widerstand ausübten (180—190 mm wie die gefundenen Normalwerte). Dahingegen senkte sich nach Atropin der Widerstand auf 130 mm herab. Scheint zwar dieser Versuch auf den ersten Blick gegen unsere Annahme einer Mitwirkung des Darminnendrucks auf den SO-Tonus zu sprechen, so darf nicht übersehen werden, daß in einem laut Versuchsanordnung 3 cm langen Teil des geschlossenen Duodenalrohrs auch bei ausgesprochener Kontraktion keine wesentlichen Drucksteigerungen im Lumen entstehen können. Wohl aber kann bei Erschlaffung auch eines so kleinen Abschnitts des Duodenums eine deutlichere Druckabnahme zustandekommen. Damit könnte die Widerstandsabnahme des SO nach Atropin seine Erklärung finden.

In der schon erwähnten Arbeit von Reach, in der er noch nicht seine spätere, für unsere Fragestellung unbrauchbare modifizierte Methode anwandte, erwies sich Pilokarpin als ein „prompt verengendes" Mittel. Das Papaverin und Skopolamin hingegen, besonders eine Kombination beider Mittel, zeigten eine ausgesprochene Tonusabnahme des SO. Bezüglich des Atropins fand jedoch Reach im Gegensatz zu Brugsch und Horsters in der Mehrzahl der Fälle Tonuszunahme des SO. Morphium erwies sich als deutlich verengend. Nun wissen wir aber aus Untersuchungen von Magnus[6], daß das Morphium eine starke und dauernde Kontraktion des Sphincter antri pylorici hervorruft und sich der Pylorus selbst ebenfalls tonisch schließt.

Besonders sei noch hingewiesen auf die Untersuchungen von Burget[7], der an Hunden, denen der D. choledochus knapp vor dem SO durchschnitten und an anderer Stelle ins Duodenum verpflanzt wurde, nach Darreichung von darmtonussteigernden Substanzen dieselben Widerstandswerte fand wie vor der Operation an denselben Tieren mit erhaltenem SO.

Diese kurze Übersicht zeigt, daß sich für alle Versuchsergebnisse eine gemeinsame Erklärung finden läßt, wenn man das Augenmerk auf die durch Versuchsbedingungen geschaffenen Innendruckverhältnisse im Lumen des Magen-Duodenums lenkt, dagegen auf Widersprüche stößt, wenn man nur den Darmwandtonus in Betracht zieht.

Die Untersuchungen vorliegender Arbeit wurden mit einer Methode ausgeführt, die es ermöglicht, die Versuche über längere Zeit auszudehnen und am selben Tier zu wiederholen, zugleich aber den Endabschnitt des D. choledochus in Zusammenhang mit dem unversehrten Magen und Duodenum beläßt, somit alle Faktoren, die beim Sperrmechanismus des distalen D. choledochus-Abschnitts eine Rolle spielen können, einbezieht. Die Untersuchungen am SO an 8 Kaninchen und 5 Hunden erstreckten sich

[6] Zit. Meyer-Gottlieb: Exper. Pharmakologie. Berlin-Wien, Urban Schwarzenberg, 1933. — [7] Zit. Babkin: l. c.

auf Beobachtungen im Verlauf physiologischer Vorgänge (Flüssigkeitszufuhr und Nahrungsaufnahme), Beeinflussung durch Pharmaka, auf das im Verlauf von Leber-Gallenkrankheiten so häufig auftretende Symptom des Erbrechens, sowie auf das Verhalten nach Wärmeapplikationen (Kurzwellen und Moorpackungen) und Zufuhr eines magnesiumreichen Mineralwassers*.

Methodik.

Die zur laufenden Messung der SO-Tonusschwankungen angewandte Methode wird an anderer Stelle[8] ausführlich beschrieben, deshalb sei hier nur kurz darauf eingegangen. Der D. choledochus wurde knapp vor seinem Eintritt in die Duodenalwand unterbrochen, seine beiden Enden mittels Gummischlauchs nach außen geleitet. Aus dem hepatalen Gummirohr floß Galle, das duodenale Gummirohr wurde außerhalb der Bauchhöhle mittels eines T-Stücks und Gummischlauchs mit einem an erhöhter Stelle befindlichen Gallereservoir-Gefäß verbunden; an den anderen Schenkel des T-Stücks wurde ein Steigrohr, das als Manometer diente, angebracht. Der vom Gallenreservoirgefäß zum T-Stück führende Schlauch wurde mit Quetschhahn geschlossen, die sezernierte Galle — nach vorgenommenen Messungen — ins Gallenreservoirgefäß entleert. Wurde nun der Quetschhahn geöffnet, und zwar in kürzesten, kaum Sekunden dauernden aufeinanderfolgenden Perioden, so schnellte der Gallenmeniskus im Steigrohr in entsprechenden, jeweils 10 mm ausmachenden Abständen in die Höhe, bis durch den hydrostatischen Druck der Steigrohrgalle der vom SO ausgehende Widerstand überwunden wurde. Das tut sich am Steigrohr als plötzlicher Abfall des Gallenmeniskus kund, der dann — registriert wurde der Stand nach 2—3 Minuten — verschieden schnell und tief zum Stillstand kam. Darauf begann die Messung von neuem.

Zur Mageninnendruckbeobachtung wurde eine mit Kondomblase versehene Sonde, um die außerdem ein Katheterschlauch gewunden war, zwecks Einführung von Flüssigkeiten, in den Magen eingeführt und durch ein T-Stück mit 2 aneinandergereihten Wassermanometern verbunden. Das Aufblasen des Magenballons geschah durch den anderen Schenkel des T-Stücks.

Zur graphischen Registrierung wurden die oberen Enden aller Steigkapillaren durch Gummischläuche mit Mareykapseln verbunden, die die Schwankungen der über den Menisken ruhenden Luftsäule auf die Schreibtrommel übertrugen. — Diese Art der gleichzeitigen automatischen Registrierung (siehe Abb. 3) ist erst im Laufe der Versuche ausgearbeitet worden. Die übrigen Ausführungen stützen sich auf laufend abgelesene und notierte Meßhöhen der Versuchsprotokolle.

Versuchsergebnisse.

Zunächst soll auf Beobachtungen hingewiesen werden, die oft im Verlauf der SO-Messungen gemacht wurden und die die funktionelle Selbständigkeit des in der Duodenalwand verlaufenden D. choledochus-Abschnitts beweisen. Entsprechend der Versuchsanordnung führte in den D. choledochus, der kaum 0,5 cm vor seiner Eintrittsstelle ins Duodenum durchtrennt war, ein halbharter Katheterschlauch, über welchen der

* Da die beiden letzteren Untersuchungsreihen in selbständigen Arbeiten veröffentlicht werden, soll auf sie nur kurz in Zusammenhang mit dem Thema eingegangen werden.

[8] Leskovar, R.: Wirkung der Kurzwellen auf die extrahepatischen Gallenwege (im Druck).

hydrostatische Druck in der Steigkapillare auf den SO übertragen wurde. Nun traten in dieser Steigkapillare, nachdem der Meniskus schon zum Stehen gekommen war (Schließung des SO), spontane von der Atmung unabhängige Meniskuserhöhungen von mehreren Millimetern auf, die in 2 Fällen besonders ausgesprochen waren (15 bzw. 18 mm).

Man kann diese Meniskusanstiege auf Grund der Versuchsanordnung nicht anders deuten, als daß an diesem kurzen D. choledochus-Endteil, der sich in der Duodenumwand befindet, 2 funktionell verschiedene Abschnitte wirksam sind: 1. ein dem Duodenallumen nächststehender und 2. ein anschließender leberwärts sich befindender. Während zum Abfluß der Galle ins Duodenum beide geöffnet sein müssen, war in obigen Fällen der unter 1. geschlossen und der unter 2. offen; durch Schließung des letzteren wurde der Meniskus in der Steigkapillare gehoben. Es liegt nahe, den unter 1. mit dem SO zu identifizieren, den unter 2. dem in der Darmwand verlaufenden D. choledochus-Abschnitt zuzusprechen. Diese Beobachtungen erinnern an Westphals[9] experimentell begründete funktionelle Zweiteilung dieses distalsten D. choledochus-Abschnitts. — Die den erwähnten spontanen Meniskuserhöhungen folgende SO-Widerstandsprüfung zeigte nie wesentlich erhöhten Widerstand.

Vergleicht man die Höhe des Anstiegs des Meniskus in der Steigkapillare, die einen Durchmesser von 2 mm hatte, mit der Länge des in der Duodenalwand verlaufenden D. choledochus, der einen Durchmesser von 2,7 mm hat[10], so kommt man zur Schlußfolgerung, daß der hohe Anstieg des Meniskus von 15 bzw. 18 mm in der Steigkapillare nur durch maximale Kontraktion des der Duodenalwand zugehörigen D. choledochus-Abschnitts möglich war. Macht man für diese Kontraktion die glatte Muskulatur des eigentlichen D. choledochus verantwortlich oder jene des ihn umschließenden Duodenums — aus der Tatsache, daß die darauf folgende SO-Tonusmessung nie erhöhte Widerstandswerte aufwies, folgt, daß der entscheidende Faktor für die Durchgängigkeit des distalsten D. choledochus-Abschnitts nicht im (Darm- oder Choledochus-) Wandtonus liegen dürfte.

Im folgenden sollen Beobachtungen über das Verhalten des SO bei Füllung des Magens und Duodenums angeführt werden. Ohne auf Einzelheiten der Ergebnisse durch Flüssigkeitszufuhr (Wasser und magnesiumhaltiges Mineralwasser[11]) einzugehen, erwies sich, daß fast stets Flüssigkeitszufuhr in den Magen oder das Duodenum von Tonuszunahme des SO begleitet war, wobei besonders die Menge und Kälte eine Rolle spielt. Ebenso zeigen alle Versuche, bei denen zwecks kymographischer Registrierung des Magens die Ballonsonde aufgeblasen wurde, sehr hohe (oft um mehrere 100 mm erhöhte) SO-Tonuswerte. An dieser Stelle sei auch erwähnt, daß nach zufällig auftretendem Rülpsen regelmäßig ein plötzliches Sinken des SO-Tonus beobachtet wurde, bei einem Tier sogar um 135 mm.

[9] Westphal, K.: Handbuch norm. u. path. Physiol. Bd. III, S. 505. Berlin, Jul. Springer, 1927. — [10] Zit. Babkin: l. c. — [11] Leskovar, R.: Über die Wirkung eines magnesiumhaltigen Mineralwassers auf die extrahepatischen Gallenwege (im Druck).

Die nächstliegende Frage ist, wie sich der SO-Tonus bei Füllung des Magens durch Nahrungsaufnahme verhält. In Übereinstimmung mit Elman und McMaster[12] konnte in eigenem Versuch am Hund festgestellt werden, daß im Verlauf des Essens der SO-Tonus vorübergehend sinkt, worauf eine längere Periode erhöhten Tonus auftritt. Diesem folgt langsames Sinken. Erklärt sich die Tonuszunahme nach Nahrungsaufnahme als Magenfüllung, so kann zur Klärung der Tonusabnahme beim Anblick der Nahrung oder während des Fressens die Tatsache herangezogen werden, daß es durch den bedingten Reflex zu starker Magensaftsekretion kommt, deren Gehalt an freier HCl mit 0,5% angegeben wird. Versuche von Babkin und Goldenberg[13] zeigten aber, daß „das Charakteristikum der Wirkung von stark konzentrierten Säuren (0,5% HCl) ist, die Wände beider Organe (Magen und Duodenum) erschlaffen zu lassen." Durch Erschlaffung nimmt aber der Druck im Lumen ab. Tatsächlich konnten auch Elman und McMaster[12] sowie Colle[13] sofortige Abnahme des SO-Tonus nach Säureeinwirkung in den Magen feststellen.

Zur Feststellung der pharmakologischen Beeinflußbarkeit des Gallensperrmechanismus wurde die Wirkung von Atropin und Pilokarpin geprüft.

10 Minuten nach subcutaner Atropininjektion fiel der SO-Tonus bei einem Kaninchen von 220 auf 165 mm ab, wo er längere Zeit verblieb und in 2 Min. Abständen gleichmäßige Oszillationen von nur 5 mm aufwies. Die Wirkung von Atropin i. v. ist auch aus Abb. 1 ersichtlich, die gleichzeitig in das Verhalten des gesamten Gallengangsystems, die Gallenblase mit einbezogen, Einblick gibt: um den maximalen Sekretionsdruck der Galle zu messen, wurde nämlich der hepatale Teil des D. choledochus mit einer Steigkapillare verbunden.

Pilokarpininjektion hingegen rief in beiden untersuchten Fällen sofortigen Anstieg des SO-Widerstands hervor, vgl. Abb. 2.

Beobachtungen am SO nach Wärmeapplikation sind insofern aufschlußreich, als Wärme einen physiologischen Reiz darstellt und die übrigen Versuchsbedingungen unverändert bleiben. Die vom entsprechenden Hautsegment reflektorisch wirksame Wärme (heiße Moorumschläge) läßt den SO-Tonus zwar etwas ansteigen, seine Schwankungen jedoch werden geringer und gleichmäßiger. Die gleichzeitige Ballonsondenregistrierung zeigt ein parallelgehendes Ansteigen des Mageninnendrucks an. Die durch Kurzwellen hervorgerufene Wärmetiefenwirkung erwies sich als eingehendere Maßnahme in Bestätigung der Befunde von Bauer[14], der am Magen eine Kontraktionserhöhung selbst bis zu einem „tetanischen Endzustand" als Folge der Kurzwellen feststellte. Obwohl in einer größeren Versuchsreihe regelmäßig ausgesprochene, längere Zeit anhaltende Senkung des SO-Tonus nach Kurzwellen auftrat, so wurde dieser Abfall ebenso regelmäßig durch eine oft hohe Anstiegszacke des SO-Tonus unterbrochen, worauf erst die endgültige Senkung folgte. Die gleichzeitige Kurve der Magenballonsonde zeigte, daß diese SO-Anstiegszacke zeitlich mit der Zunahme des

[12] Elman, R. u. Ph. McMaster: J. exper. Med. **44**, 170 (1926). — [13] Zit. Babkin: l. c. — [14] Bauer, H.: Arch. Verdkrht. **58**, 329 (1935); Ref. Zbl. inn. Med. **85**, 297 (1935).

Mageninnendrucks übereinstimmt. Des weiteren läßt sich aus den Kurvenbildern feststellen, daß die Eröffnung des SO in jeweiliger Tonushöhe sehr oft in Phasen der Druckabnahme im Magen fällt.

Zuletzt sollen noch Beobachtungen am SO angeführt werden, die im Verlauf eines besonders bei Gallenerkrankungen häufigen Vorgangs, dem

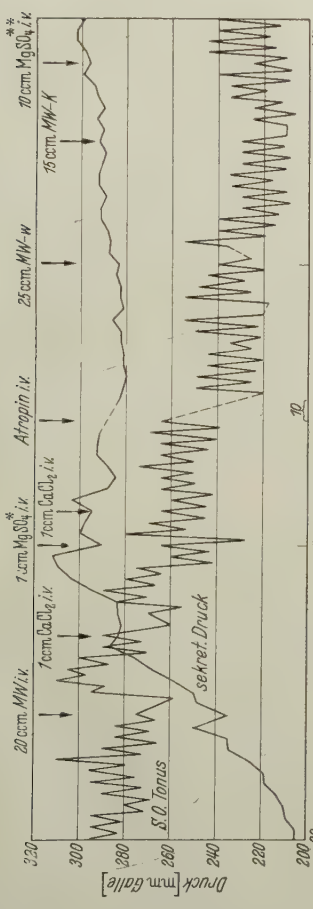


Abb. 1. Schwankungen des Sphincter Oddi-Tonus (anfangs obere Kurve) und des sekretorischen Gallendrucks (anfangs untere Kurve) beim Kaninchen.

MW = magnesiumreiches Mineralwasser („Donat"-Quelle, Rogaška Slatina); w = warm, k = kühl. $CaCl_2$ = 10 %ige Lösung, $MgSO_4$* = 15 %ige Lösung, nach deren Applikation das Tier zu schlafen beginnt, um sofort bei folgender $CaCl_2$-Injektion aufzuwachen. $MgSO_4$** = 0,7 %ige Lösung; über die tonussteigernde Wirkung intravenös verabreichter $MgSO_4$ auf den Sphincter Oddi (vgl. auch Reach[15]).

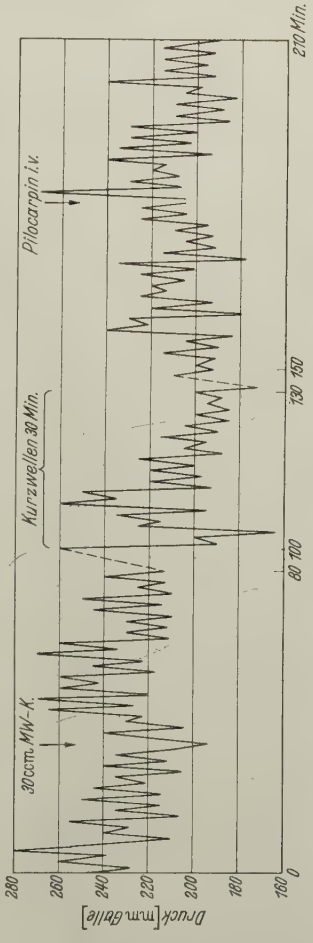


Abb. 2. Dasselbe Kaninchen. Schwankungen des Sphincter Oddi-Tonus. Zeichenerklärung vgl. Abb. 1.

Erbrechen. gemacht wurden. Sie sind vom pathophysiologischen aber auch therapeutischen Standpunkt aus interessant und besonders geeignet, auf die Beziehungen des Innendrucks im Lumen des Magen-Duodenums zur Funktion des SO hinzuweisen. Denn wie Untersuchungen von Klee[15] u. a. zeigen, wird durch die Aufeinanderfolge von Vorgängen beim Brechakt (Pylorus-schluß → Magenerschlaffung → Kontraktion des Pylorusteils → Öffnung der Kardia → ruckartige Exspiration) der Magen opti-

[15] Reach, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **100**, 379 (1923). — [16] Klee, Ph.: Handbuch norm. u. path. Physiol. Bd. III, S. 441. Berlin, Jul. Springer, 1927.

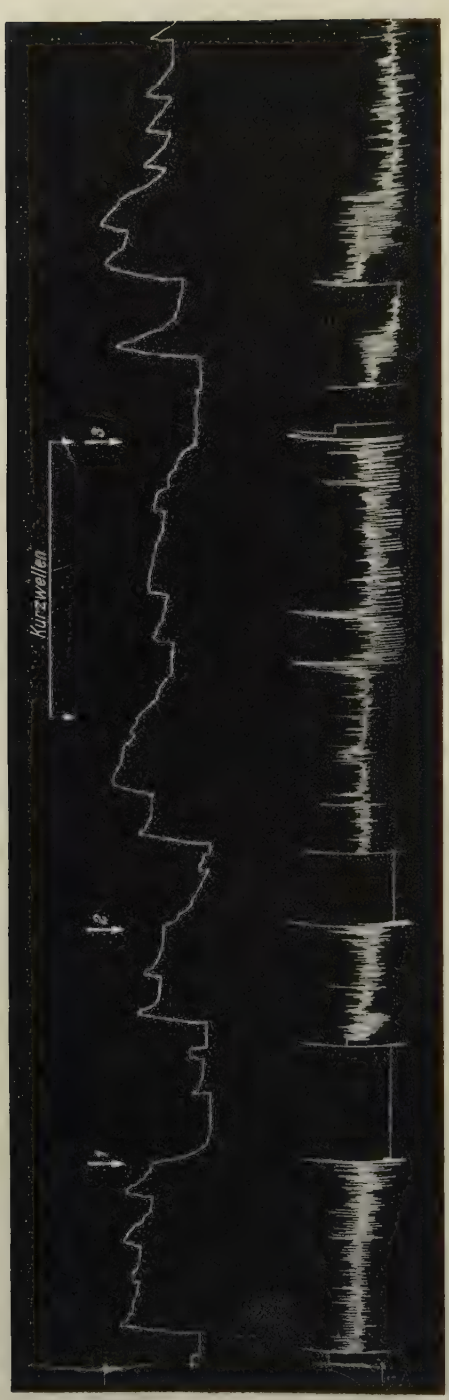


Abb. 3. Schwankungen des Sphincter Oddi-Tonus (obere Kurve) und des Mageninnendrucks (untere Kurve) beim Hund. Bei Pfeil 1, 2 und 3 setzte jedesmal Erbrechen ein.

mal entleert. Von jeder nach dem Erbrechen folgenden Erschlaffung oder Tonusabnahme auch im Verlauf der Magenperistaltik ist das Entstehen von Unterdrucken im Lumen zu erwarten.

Tatsächlich wird das durch vorliegende Beobachtungen beim Erbrechen, das im Verlauf der Versuche bei 3 Hunden einsetzte, bestätigt. Bei 2 Hunden trat es nach 30%iger $MgSO_4$-Einführung auf (vgl. auch Reach[17]), bei einem (s. Abb. 3) vermutlich wegen Reizung durch den Magenballon. Bei ersteren Tieren trat vor dem Erbrechen eine Steigerung des SO-Tonus um etwa 100 bzw. 200 mm über die vorangehenden Werte auf.

Bei allen 3 Hunden setzte im Anschluß an das Erbrechen ein besonders starker Abfall des SO-Tonus ein; bei 2 Tieren sofort nach dem Erbrechen (vgl. auch Abb. 3), bei einem erst einige Minuten später. Die Tonusabnahme (150 bis 200 mm unter den vorangehenden Durchschnittswerten) sank tief unter alle im Verlauf der betreffenden Versuche auftretenden Tonussenkungen.

Daß es im Magen nach dem Erbrechen tatsächlich zu Unterdrucken kommen kann, geht aus dem Versuch, dem Abb. 3 zugehört, hervor. Bei den Zeichen 1 und 2

[17] Reach, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **85**, 178 (1920).

trat Erbrechen auf, worauf der Magenballon jeweils wieder eingeführt wurde. Nach dem 3. Erbrechen (Zeichen 3) bekam der Magenballon einen leichten Riß, was erst später bemerkt wurde, nachdem der Ballon zum zweiten Male aufgeblasen werden mußte. Dieses war jedesmal mit einem Anstieg des SO-Tonus begleitet. Nachdem die Luft aus dem Magenballon wieder ausgelaufen war, lag der Nullpunkt des zwischengeschalteten Wassermanometers auf der Minusseite: der SO-Tonus aber fiel ab und verblieb bei tiefen Werten.

Die Tatsache, daß nach dem Erbrechen maximalste Tonussenkung des SO einsetzte, andererseits aber Brugsch und Horsters [18] den Brechakt auch als den „stärksten Expulsionsreiz für den Gallenblaseninhalt" bezeichneten, verdient therapeutisches Interesse.

Ein Rückblick auf die eigenen Versuchsergebnisse weist somit auch auf die entscheidende Bedeutung des Magen-Zwölffingerdarms bei dem Sperrmechanismus des distalen D. choledochus-Abschnitts hin. Obzwar wegen des ursächlichen Zusammenhangs des erhöhten Wandtonus mit einer Erhöhung des Drucks im Lumen und der Erschlaffung mit einer Innendruckabnahme meist nicht entschieden werden kann, welches der primäre Faktor ist, so sprechen einige Beobachtungen auch in vorliegenden Versuchen mehr dafür, daß er dem Lumen des Magen-Duodenums zukommt. Die Funktion des eigentlichen in der Papilla Vateri befindlichen SO erscheint diesem primären Faktor beigeordnet, besonders wenn er dem Innendruck zugesprochen wird und der eingangs erwähnte ventilartige Wirkungsmechanismus des SO erwogen wird.

Zusammenfassung.

1. Bei Untersuchungen, die mit Hilfe einer Methode ausgeführt wurden, die eine laufende Messung des SO-Tonus bei geschlossenem Darm ermöglicht, trat ein Abhängigkeitsverhältnis zwischen SO-Tonus und Mageninnendruck in Erscheinung.

2. Es wird über Ergebnisse der SO-Widerstandsmessungen im Verlauf physiologischer Funktionen des Magens, pharmakologischer Beeinflussung und des Erbrechens berichtet, sowie auch jene im Verlauf von Wärmeapplikationen und bei Zufuhr eines magnesiumhaltigen Mineralwassers gemachten, erwähnt.

3. Bei allen Untersuchungen wird weitgehende Gleichsinnigkeit der Innendruckschwankungen im Magen-Duodenum mit den Tonusschwankungen des SO festgestellt.

4. Es wird gefolgert, daß der Innendruck im Magen-Duodenum der entscheidende Faktor für die Funktion des sich am distalen Choledochusabschnitt befindlichen Sperrmechanismus ist, dem der SO beigeordnet ist.

[18] Brugsch, Th., u. H. Horsters: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **118**, 305 (1926).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Péter Pázmány-Universität zu Budapest.

Zur Frage der Sekretion des Hypophysenhinterlappens in den Liquor nach Histamininjektion und in den Harn bei durstenden Tieren*.

Von

A. Simon und **E. Gyulai.**

Mit 4 Textabbildungen (5 Einzelbildern).

(Eingegangen am 20. Januar 1941.)

Seit mehreren Jahren ist der eine von uns bestrebt, eine experimentelle Antwort auf die Frage zu erhalten, ob der Hypophysenhinterlappen seine Hormone: das Vasopressin und das Oxytocin nur gemeinsam oder auch einzeln sezernieren kann. Aus diesem Grunde untersuchte er den Gehalt des Liquors an diesen Stoffen bei unbehandelten Tieren und nach der Darreichung von Diuretica und Insulin[1] wo Hoff und Wermer[2] bzw. Dixon und Wadia[3] eine vermehrte Oxytocinsekretion beschrieben sodann später den Vasopressingehalt des Liquors durstender Tiere[4] und den Vasopressingehalt des Blutes[5]. Obwohl zu diesen Versuchen sehr empfindliche, zum Teil von dem einen von uns beschriebene Methoden angewendet wurden, konnten wir, im Gegensatz zu früheren Autoren, weder im Blute, noch im Liquor diese beiden Hormone nachweisen.

Ist im Liquor Cerebrospinalis nach Histamininjektion Hypophysenhinterlappenhormon nachweisbar?

Im Jahre 1938 erschien eine Abhandlung von Ungar und Dubois[6], in welcher behauptet wird, daß bei mit Dial narkotisierten Katzen der Liquor eine bedeutende uteruserregende Wirkung nach intravenöser oder in die Carotis gegebenen Histaminmengen verursacht. Die Uteruswirkung wurde von den Autoren als Folge vermehrter Oxytocinsekretion aufgefaßt. Diese Ergebnisse veranlaßten uns, das früher erwähnte Problem noch einmal zu untersuchen. Wir wollten feststellen, ob neben dem Oxytocin nach Histamingaben auch Vasopressin sezerniert wird oder nicht. In diesen,

* Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der Fürst Esterházy-Stiftung ausgeführt.

[1] Simon, A.: J. Pharmacol. (Am.) **49**, 375 (1933). — [2] Hoff u. Wermer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **133**, 84 (1928). — [3] Dixon u. Wadia: Brit. med. J. **1**, 820 (1926). — [4] Simon, A., u. Z. Kardos: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 238 (1934). — [5] Simon, A.: Ebenda **187**, 672 (1937). — [6] Ungar, A., u. J. Dubois: C. r. Soc. Biol. **127**, 292 (1938).

wie auch in allen unseren diesbezüglichen Versuchen wurden meistens 0,5 mg Histamin in die Carotis gegeben. Liquor wurde durch Suboccipitalstich gewonnen. Die Vasopressinwirkung wurde am Blutdruck der decapitierten Ratte untersucht, welche Methode, wie Simon beschrieb[4], sehr geeignet ist, kleine Mengen dieses Hormons nachzuweisen.

In drei Katzenversuchen konnten wir im 0,5 –1,0 ccm-Liquor eine ausgesprochene blutdrucksteigernde Wirkung weder vor noch nach Histamingabe beobachten, was soviel besagt, daß entweder keine Vasopressinsekretion vorhanden ist, oder wenn sie auch stattfindet, die sezernierte Menge den Schwellenwert des Testobjektes nicht erreicht.

Da diese Versuche negativ ausfielen, versuchten wir die vermutete vermehrte Oxytocinsekretion näher zu analysieren. Zum Nachweis der Uteruswirkung wurden die Uteri virgineller 200—300 g wiegender Meerschweinchen in Burn-Dalescher Flüssigkeit im Bade von 100 ccm Inhalt befestigt. In diesen großen Gefäßen konnten wir aber nur ausnahmsweise eine Wirkung erhalten. Deshalb schritten wir zur Benutzung kleiner Uterusbäder (Inhalt 5 ccm). Unser Apparat war ein von Simon modifizierter Trendelenburgscher Apparat zur Bestimmung kleiner Oxytocinmengen[1]. Mit dieser Methodik konnten wir wirklich die von Ungar und Dubois beschriebene Tonuserhöhung der Uterusmuskulatur vom Liquor mit Histamin behandelter Katzen beobachten. 0,5—1,0 ccm Liquor, genommen 5—30 Minuten nach Histamingabe, hatten meistens eine ausgesprochene Wirkung verursacht.

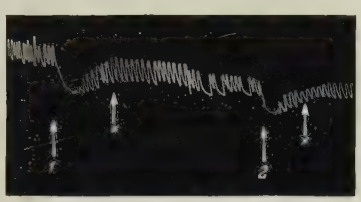


Abb. 1. Rattenuterus. Beim Pfeil 1 0,85 ccm Katzenliquor, genommen 5 Minuten nach der in die Carotis gegebenen 0,5 mg Histamin. Beim Pfeil 2 1,0 ccm Liquor, genommen nach 35 Minuten nach der Histamininjektion. Bei × Auswaschung.

Um zu erkennen, ob diese Tonuserhöhung durch Oxytocin oder vielleicht durch Histamin hervorgerufen ist, brauchten wir in 8 Versuchen im oben beschriebenen Apparat von 5 ccm Inhalt Rattengebärmutter. Es ist bekannt, daß der Rattenuterus auf Oxytocin mit Tonuserhöhung, auf Histamingaben mit Tonuserniedrigung reagiert. In unseren Versuchen beobachteten wir dreimal keine Wirkung, in 4 Fällen ausgesprochene Tonussenkung und nur in einem Falle eine geringe Tonuserhöhung nach 1,0 ccm Liquor, welcher 8 Minuten nach Histamingabe gewonnen wurde. Aber die nach 25 Minuten gewonnene Liquorprobe verursachte schon keine Wirkung mehr. Das Testobjekt wurde immer auch auf Oxytocinwirkung geprüft. Ein typisches Beispiel wird in Abb. 1 gegeben.

Gemäß diesen Versuchen stammt also die von Ungar und Dubois beobachtete Uteruswirkung nicht von der Hypophysenhinterlappensekretion, sondern sehr wahrscheinlich von dem dargereichten Histamin.

Ist im Harn durstender Tiere Hypophysenhinterlappenhormon nachweisbar?

Im Jahre 1937 erschien die Abhandlung der Amerikaner Gilman und Goodman[7], in welcher die Autoren im Harn durstender Ratten eine diuresehemmende Substanz beschrieben, die nach ihrer Meinung vom Hinterlappen herstammt. Da Simon schon im Jahre 1934 im Hypophysenhinterlappen durstender Tiere den Hormongehalt bedeutend vermindert fand[8, 4], schien uns die Folgerung der Amerikaner, gezogen aus ihren ausgedehnten Versuchen, welche übrigens auch schon Simon aussprach, logisch, nämlich, daß der Hypophysenhinterlappen bei durstenden Tieren, um dem Wasserverlust des Organismus vorzubeugen, eine vermehrte Sekretion entfaltet. O. Arnold aber, der ausgedehnte Nachuntersuchungen machte[9], leugnete die hypophysäre Herkunft der antidiuretischen Wirkung der Harnextrakte. Er fand nämlich auch im Harn des hypophysenlosen Hundes Diuresehemmung und das Harnextrakt verursachte keine für das Vasopressin typische Kochsalzmobilisierung, außerdem hemmte das Harnextrakt nicht durstender Tiere auch die Ausscheidung zugeführter Wassermengen.

Es schien daher wünschenswert, in eigenen Versuchen die Frage der Ausscheidung von Hypophysenhinterlappenhormon im Harne bei durstenden Tieren zu klären. Wir suchten im Harne nach Vasopressin und unser Plan war, falls das blutdruckwirksame Hormon nachgewiesen werden konnte, nachher auch nach dem uteruswirksamen Hormon zu fahnden.

Während Gilman und Goodman und auch Arnold die Harnextrakte durch Dialyse herstellten, welche nachher eingeengt wurden, strebten wir danach, die im Harn beschriebenen kreislaufaktiven Stoffe aus dem Extrakt möglichst auszuschließen, um das eventuelle Vasopressin des Extraktes am Blutdruck der dekapitierten Ratte, welches Testobjekt, wie schon erwähnt wurde, sehr geeignet für den Nachweis kleiner Mengen dieses Stoffes gefunden wurde, besser nachweisen zu können. Zu diesem Zwecke wurde der mit Zusatz von Essigsäure — ebenso wie in den Versuchen der erwähnten Autoren — 3 Tage lang gesammelte Harn von 3—4 Ratten mit Äthyläther mehrmals im Scheidetrichter je 10 Minuten lang geschüttelt, um das in Äther lösliche Urohypertensin, welches nach Bain Isoamylamin ist, zu entfernen. Nachher wurde der Harn bei vermindertem Drucke bei 45° C bis zur Trockene eingeengt. Der Trockenrückstand wurde mit ungefähr 20 ccm 96%igem Äthylalkohol auf mehrere Stunden, meistens auf eine Nacht, im Eisschrank stehengelassen. Nachher wurde abfiltriert. Das Filtrat wurde mit 1 ccm 4%iger Essigsäure versetzt und entweder vor einem Ventilator bei Zimmertemperatur oder bei vermindertem Druck bei 35—40° C wieder bis zur Trockene eingeengt. Durch diese Prozedur dachten wir, das im hochkonzentrierten Alkohol unlösliche Kallikrein aus-

[7] Gilman, A., u. L. Goodman: J. Physiol. (Brit.) **90**, 113 (1937). — [8] Simon, A.: Amer. J. Physiol. **107**, 220 (1934). — [9] Arnold, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 360 (1938).

zuschließen, das Vasopressin aber, das in den Alkohol übergeht, zu erhalten. Der Trockenrückstand wurde in 8 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgefangen und nach Neutralisation mit 0,1 n NaOH am Blutdruck der dekapitierten Ratte untersucht. Da der von Page beschriebene Stoff des Harns nur auf zentralem Wege blutdrucksteigernd wirkt, konnte die Wirkung dieses Stoffes durch die Bestimmung am dekapitierten Tier nicht zum Vorschein kommen. Mit Hypophysenhinterlappenhormon gelöst in physiologischer Kochsalzlösung haben wir den Gang der hier beschriebenen Extraktion mehrmals durchgeführt. Das Endextrakt war immer wirksam.

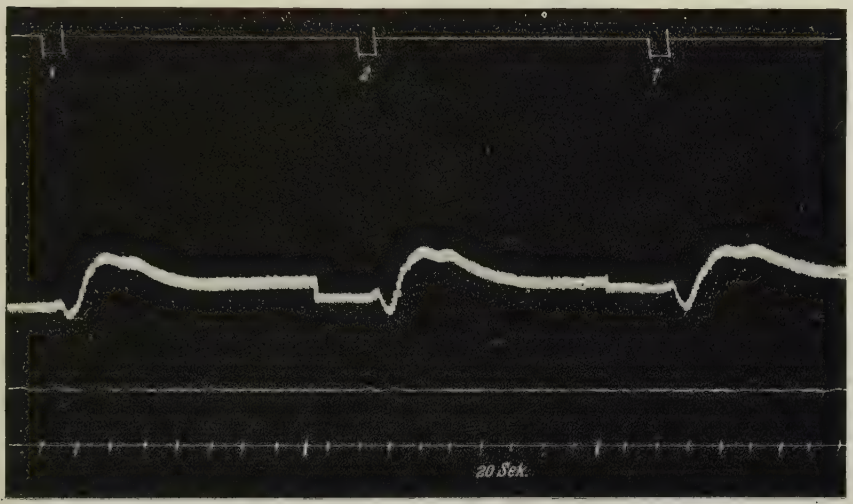


Abb. 2. Blutdruck der dekapitierten Ratte. Bei 1 0,5 ccm Harnextrakt unbehandelter Ratten. Bei 2 0,5 ccm Harnextrakt durstender Ratten.

0,2—0,5 ccm Harnextrakt verursachten am Blutdruck der dekapitierten Ratte meistens ausgesprochene Steigerungen von 1—2 Minuten Dauer, denen beinahe immer kleinere Senkungen von meistens 10—20 Sekunden Dauer vorangingen. Es wurden die Kurven von 7 Gruppen durstender Tiere mit 7 Gruppen unbehandelter verglichen. Die Ergebnisse waren keineswegs einheitlich. Nur in 3 Versuchen waren die durch Extrakte durstender Tiere hervorgerufenen Steigerungen größer als die der unbehandelten Tiere. In den anderen 4 Fällen waren die Blutdrucksteigerungen der 2 Gruppen entweder gleich oder die der nichtdurstenden Tiere waren größer. Ein Teil eines Blutdruckversuchs wird in Abb. 2 gezeigt. Dieses Ergebnis bestätigt also die Ergebnisse von Arnold und spricht zu Ungunsten der Untersuchungen von Gilman und Goodman.

Es zeigte sich außerdem während dieser Blutdruckbestimmungen, daß abgesehen von der initialen Blutdrucksenkung, welche durch Vasopressin in Blutdruckversuchen dieser Art nicht hervorgerufen werden konnte, auch keine Tachyphylaxie, die typisch für diesen Stoff ist, sich zeigte.

Einige Minuten nach dem Abklingen der zweite oder dritte gleiche Gabe desselben Blutdrucksteigerung rief eine Extraktes meistens — wenn das Rattenpräparat sich im gutem Stadium befand — gleich große Steigerungen hervor.

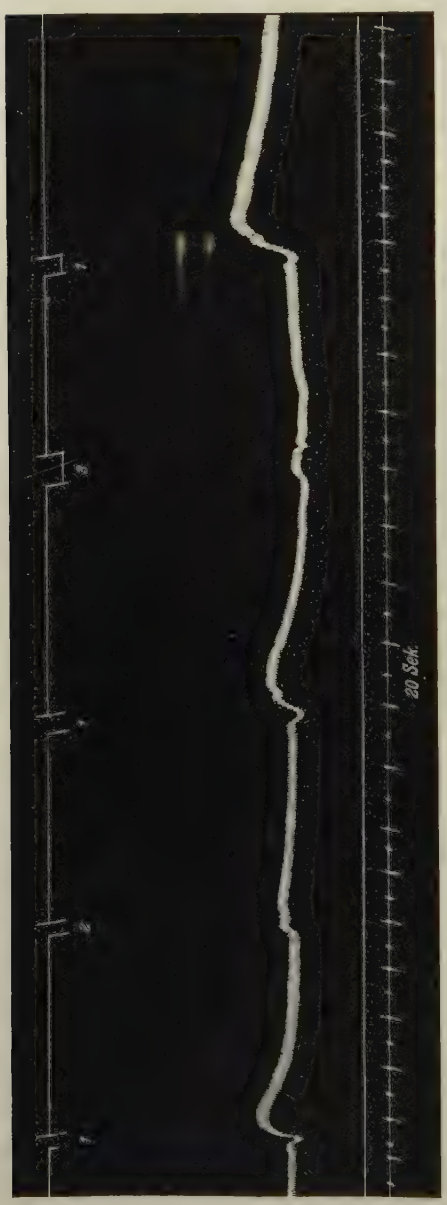


Abb. 3. Blutdruck der dekapitierten und adrenalektomisierten Ratte. Bei 1 0,2 ccm Harnextrakt durstender Ratten. Bei 2 0,2 ccm Harnextrakt normaler Ratten. Bei 3 0,2 mg Cocain hydrochlor.

Es schien also aus diesen Untersuchungen hervorzugehen, daß der von uns gefundene blutdrucksteigernde Stoff dieser Harnextrakte nicht Vasopressin sein kann. Um über die Natur dieses Stoffes mehr zu erfahren, haben wir einige weitere Versuche angestellt.

Da die Blutdrucksteigerung dieser Extrakte auch sekundär durch Adrenalinausschüttung aus den Nebennieren entstanden gedacht werden konnte, verabreichten wir Extrakte auch der adrenalektomisierten, dekapitierten Ratte. Die Blutdrucksteigerung kam auch hier zum Vorschein (Abb. 3). Dieser Versuch schließt also aus, daß der blutdrucksteigernde Stoff dieser Extrakte Histamin sei, welches bekanntlich am dekapitierten Tier durch Adrenalinausschüttung Blutdrucksteigerung hervorruft. Außerdem verursacht das Histamin, wie von Simon schon früher beschrieben wurde, in 2—5 γ Mengen an diesem Präparat entweder keine Wirkung oder gar Blutdrucksenkung. Gemäß Gaddum[10] ist übrigens Histamin im Urin meistens nicht vorhanden.

[10] Gaddum, J. H.: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe, S. 45. 1936.

In 3 Versuchen haben wir die interessante Erscheinung beobachtet, daß nach 0,2 mg Cocain HCl-Injektion die Blutdrucksteigerung des Harnextraktes vergrößert wird (Abb. 3). Dieses Verhalten ist sehr ähnlich der Wirkung dem blutdrucksteigernden Stoffe des Katzenserums. Daß dieser Stoff aber sehr wahrscheinlich nicht identisch mit dem letzteren ist, zeigten 2 Versuche, in welchen die Blutdruckwirkung der Harnextrakte auch nach Gynergengaben untersucht worden ist. Nach Gaben dieser Substanz riefen die Extrakte statt Steigerung nur Senkung hervor. Diese Erscheinung trat aber schon nach solchen Gynergengaben auf, die die Wirkung des blutdrucksteigernden Stoffes des Katzenserums noch nicht in Senkung umgekehrt haben.

Das Harnextrakt rief bei mit Äther narkotisierten Ratten bei hohem Blutdruck immer nur Senkung hervor.

Kallikrein (Padutin) ist in Alkohol unlöslich und ist auch durch Kochen zerstörbar. Diese Eigenschaften schließen es aus, daß der kreis-

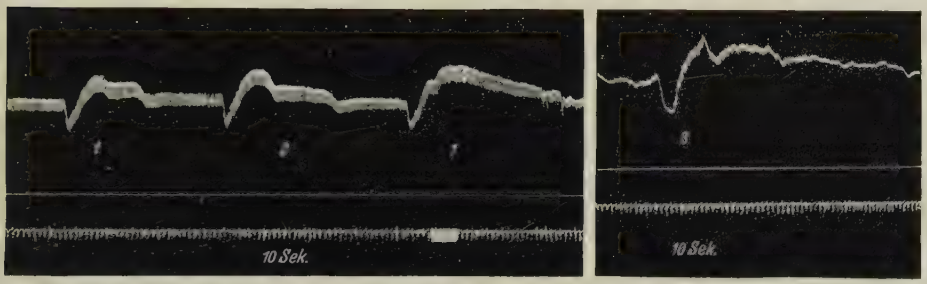


Abb. 4. Blutdruck der dekapitierten Ratte. Bei 1 0,25 ccm Harnextrakt normaler Ratten. Bei 2 0,25 ccm von demselben Harnextrakt, gekocht. 10 Minuten lang. Bei 3 0,25 ccm von demselben Harnextrakt, gekocht 10 Minuten lang in alkalischem Medium. (Zu 2 ccm Extrakt 0,2 ccm NaOH.)

laufwirksame Stoff dieser Extrakte Kallikrein sei. Denn abgesehen davon, daß das Extrakt durch Lösung in Alkohol hergestellt worden ist, fanden wir, daß das Harnextrakt seine blutdrucksteigernde Wirkung nicht verliert, wenn es 10 Minuten lang im kochenden Wasserbad gehalten wurde. Sogar verursachte 10 Minuten langes Kochen im alkalischen Medium (2 ccm Extrakt + 0,2 ccm n NaOH) die Zerstörung der steigernden Wirkung nicht (Abb. 4).

Darreichung von Kallikrein (0,2—0,5 Einheit) übte in einem Versuche keine Wirkung auf den Blutdruck der dekapitierten Ratte aus.

Besprechung der Ergebnisse.

Durch die ausgeführten Experimente konnten wir also wieder keine Antwort auf die Frage erhalten: sezerniert der Hypophysenhinterlappen seine beiden Hormone einzeln oder beide zugleich.

Es zeigte sich nämlich erstens, daß nach Histamininjektion in der Zerebrospinalflüssigkeit nicht Hinterlappenhormon, sondern wahrscheinlich Histamin erschien. Zweitens wurde in für die Aufnahme von Vasopressin geeigneten Harnextrakten ein anderer Stoff als Hinterlappenhormon gefunden.

Dieser kreislaufaktive Stoff scheint außerdem weder Histamin, Kallikrein, der von Page beschriebene Stoff, noch der blutdrucksteigernde Stoff von Katzenserum zu sein, obwohl ebenso, wie beim letzteren Stoff, die blutdrucksteigernde Wirkung durch Cocain vergrößert wird.

Obwohl in unseren Versuchen eine vermehrte Sekretion des Vasopressins in den Harn bei durstenden Tieren nicht gefunden werden konnte, ist angesichts der neueren Untersuchungen von Kuschinsky[11], der nach Wassergabe und nach Novasurolinjektionen bei Ratten auch Veränderungen im Hormongehalt des Hypophysenhinterlappens gefunden hat, sowie der Zusammenfassung von Van Dyke[12], höchstwahrscheinlich, daß die von Simon gefundene Verminderung des Hormongehalts des Hinterlappens bei durstenden Tieren auf eine Ausschüttung des Hormons um dem Wasserverlust des Organismus vorzubeugen, zurückzuführen ist.

Zusammenfassung.

1. Nach Histamininjektion bei mit Dial narkotisierten Katzen wurde im Liquor weder Oxytocin, noch Vasopressin, sondern wahrscheinlich Histamin gefunden.

2. Im Harnextrakt unbehandelter oder durstender Ratten konnte am Blutdruck der dekapitierten Ratten kein Vasopressin nachgewiesen werden.

3. Im Harnextrakt von Ratten wurde ein kreislaufaktiver Stoff gefunden, dessen Blutdruckwirkung durch Cocain verstärkt wurde. Der Stoff ist thermostabil und scheint mit keinen der im Harn schon beschriebenen kreislaufaktiven Stoffe identisch zu sein.

[11] Kuschinsky, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 536 (1939). — [12] Dyke, H. B. Van: The Physiology and Pharmacology of the Pituitary Body. 2. Band, 1939.

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der Kaštel A. G., Zagreb, Jugoslawien.

Über die pharmakologische Wirkung von Chinuclidin und verwandten Verbindungen.

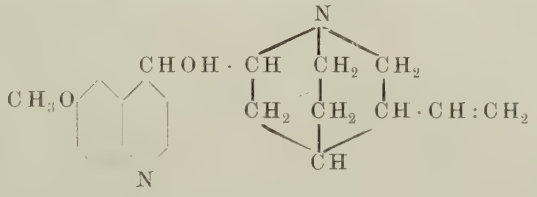
Von

Pavao Stern.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Februar 1941.)

Wenn wir die Konstitutionsformeln der China-Alkaloide z. B. des Chinins [Formel (1)] betrachten, so werden wir feststellen können, daß sie ein eigentümliches Doppelringsystem mit Stickstoff an der Verzweigungsstelle der beiden Ringe enthalten, welches Chinuclidin genannt wird.



In anderen Alkaloiden kommen weitere verwandte Systeme vor: Die Alkaloide aus den verschiedenen Lupinus- und Spartium-Arten enthalten z. B. das Doppelringsystem des Norlupinans [Formeltafel (12)], in den Alkoholen der Heliotropium- und Senecio-Arten wurde das Gerüst des Pyrrolizidins [Formeltafel (11)] nachgewiesen. Obschon besonders die Pharmakologie der wichtigen Chinaalkaloide genau erforscht wurde[1], war uns über die pharmakologischen Eigenschaften des Chinuclidins und der ihm verwandten Verbindungen, der bicyclischen Amine mit Stickstoff an der Verzweigungsstelle des Ringsystems, praktisch nichts bekannt. Der Grund dafür ist darin zu suchen, daß diese Verbindungen auch von der chemischen Seite aus nur wenig erforscht und schwer zugänglich waren. Erst in neuerer Zeit wurden relativ einfache synthetische Methoden ausgearbeitet, welche neben solchen bicyclischen Aminen mit Stickstoff an der Verzweigungsstelle, die in der Natur vorkommen, auch diejenigen, welche eine geringere oder größere Zahl von Ringkohlenstoffatomen enthalten, darzustellen erlauben. Das Ziel unserer Arbeit war, die so zugänglich gewordenen Verbindungen auf ihre wichtigsten pharmakologischen Wirkungen zu prüfen und so einen Beitrag zur Kenntnis des Zusammenhangs zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung zu liefern. Eine Übersicht der von uns be-

[1] Siehe z. B. Heffter: Handbuch der Pharmakologie, Bd. II, 1. Berlin 1920.

arbeiteten Verbindungen gibt die Tabelle 1 mit der zugehörigen Formeltafel.

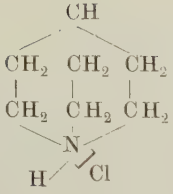
Tabelle 1.

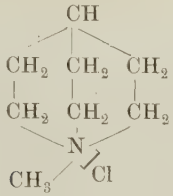
Nr.	Name der Verbindung	D. L. M. i. p./20 g Maus
2	Chinuclidin-hydrochlorid [2]	0,5 mg
3	Chinuclidin-chlormethylat [3]	5,0 „
4	α-Methyl-chinuclidin-hydrochlorid [4]	2,0 „
5	α-Oxymethyl-chinuclidin-hydrochlorid [5]	10,0 „
6	β-Äthyl-chinuclidin-hydrochlorid [6]	1,0 „
7	Thio-chinuclidin-bromid, Bicyclo-[2, 2, 2]-thianium-1-octan-bromid [7]	0,2 „
8	Bicyclo-[1, 2, 2]-aza-1-heptan-hydrochlorid [8]	0,25 „
9	Bicyclo-[1, 2, 2]-aza-1-heptan-chlormethylat [3]	3,0 „
10	Bicyclo-[1, 2, 2]-thianium-1-heptan-chlorid [9]	0,03 „
11	Pyrrolizidin-hydrochlorid [10]	5,0 „
12	Norlupinan-hydrochlorid [11]	4,0 „
13	Norlupinan-chlormethylat [3]	3,0 „
14	Bicyclo-[1, 3, 3]-aza-1-nonan-hydrochlorid [12]	2,0 „
15	Bicyclo-[1, 3, 3]-aza-1-nonan-chlormethylat [3]	1,0 „

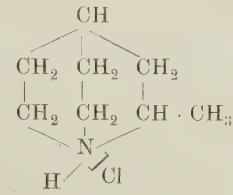
Neben dem Chinuclidin (2) und seinem Chlormethylat (3) wurden drei weitere Chinuclidinderivate mit Substituenten an solchen Stellen [vgl. Formel (1)] untersucht, welche in den Chinaalkaloiden besetzt sind [Verbindungen (4), (5), (6)]; in der Verbindung (7), dem Thiochinuclidinsalz, wurde das Stickstoffatom des Chinuclidins durch Schwefel ersetzt. Eine Methylengruppe weniger als das Chinuclidin hat sein niedrigeres Ringhomologe, das Bicyclo-[1, 2, 2]-aza-1-heptan (8), welches sich von dem Chinuclidin chemisch auch dadurch unterscheidet, daß es ein gespanntes System enthält. Die Ersetzung des Stickstoffs in der Verbindung (8) durch Schwefel führt zu einer pharmakologisch besonders stark wirksamen Verbindung (10). Die bisher genannten Verbindungen bilden eine Gruppe, die man sich in konstitutivem Zusammenhange mit den Chinaalkaloiden denken kann, sie enthalten einen Piperidinring, der in 1, 4-Stellung überbrückt ist. Außer dieser Gruppe untersuchten wir noch das Pyrrolizidin (11), dessen Gerüst in Alkaloiden der Heliotropium- und Senecioarten vorkommt und das Norlupinan (12), die Muttersubstanz des Lupinins und anderer Alkaloide.

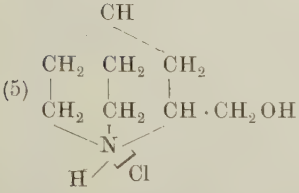
[2] Prelog, Cerkovnikov u. Ustricev: Liebigs Ann. d. Chem. **535**, 39 (1938). — [3] Die Chlormethylate, welche in der Literatur nicht beschrieben sind, wurden aus den Jodmethylaten durch Schütteln mit einer frisch dargestellten Silberchloridsuspension, Filtrieren, Abdampfen im Vakuum und Kristallisation gewonnen. Ihre Zusammensetzung wurde durch eine Stickstoffbestimmung kontrolliert. — [4] Prelog, Heimbach u. Cerkovnikov: Liebigs Ann. d. Chem. **545**, 243 (1940). — [5] Prelog u. Cerkovnikov: Ebenda **545**, 259 (1940). — [6] Prelog, Šoštarić u. Guštak: Ebenda **545**, 247 (1940). — [7] Prelog u. Kohlbach: Ber. dtsch. Chem. Ges. **72**, 672 (1939). — [8] Prelog u. Cerkovnikov: Liebigs Ann. d. Chem. **525**, 295 (1936). — [9] Prelog u. Cerkovnikov: Ebenda **537**, 214 (1939). — [10] Prelog u. Heimbach: Ber. dtsch. chem. Ges. **72**, 1101 (1939). — [11] Prelog u. Božičević: Ebenda **72**, 1103 (1939). — [12] Prelog, Heimbach u. Seiwerth: Ebenda **72**, 1319 (1939).

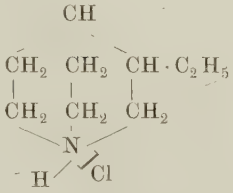
Formeltafel.

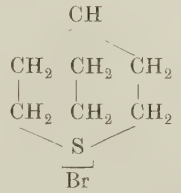
(2) 

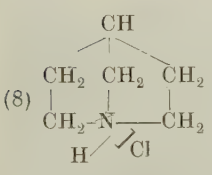
(3) 

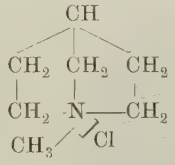
(4) 

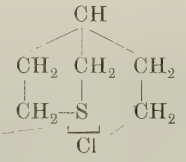
(5) 

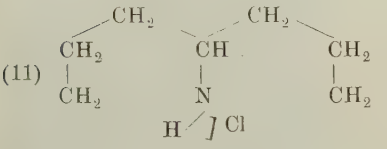
(6) 

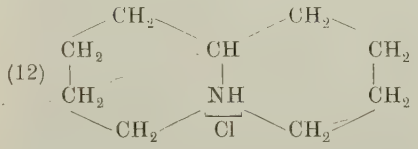
(7) 

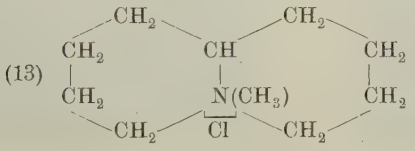
(8) 

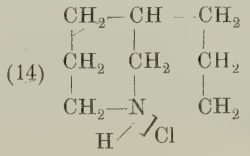
(9) 

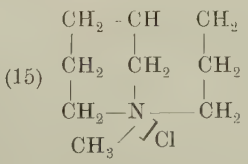
(10) 

(11) 

(12) 

(13) 

(14) 

(15) 

Beide Körper sind charakterisiert durch Verknüpfung der beiden Ringe in 1, 2-Stellung. Eine Sonderstellung nimmt das in 1, 3-Stellung verknüpfte Bicyclo-[1, 3, 3]-aza-1-nonan (14) ein. Von den tertiären Aminen (8), (12) und (14) wurden auch quartäre Salze (9), (13) und (15) untersucht. Alle untersuchten Substanzen wurden in dem Institut für organische Chemie der Technischen Fakultät der Universität Zagreb dargestellt und in analysenreinem Zustande geliefert.

Versuche.

Die Toxizitätsbestimmungen wurden für Vergleichszwecke an weißen Mäusen bei intraperitonealer Darreichung ausgeführt.

Die minimalen letalen Dosen für 20 g Körpergewicht sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Der Tod erfolgte meistens im Krampf. Bei der Betrachtung der Tabelle ergibt sich, daß sich die nichtsubstituierten in 1, 4-Stellung überbrückten Piperidinderivate und ihre Schwefelanaloga durch besonders große Toxizität auszeichnen. Auch bei anderen Versuchen zeigten diese vier Verbindungen (2), (7), (8), (10), die größte Wirksamkeit, es wurde ihnen daher die größte Aufmerksamkeit geschenkt. Die Toxizität erreicht ihr Maximum bei der schwefelhaltigen Verbindung (10), welche wir zwischen die giftigsten einfacheren Verbindungen, die wir überhaupt kennen, einreihen dürfen. Die M.D.L. intravenös

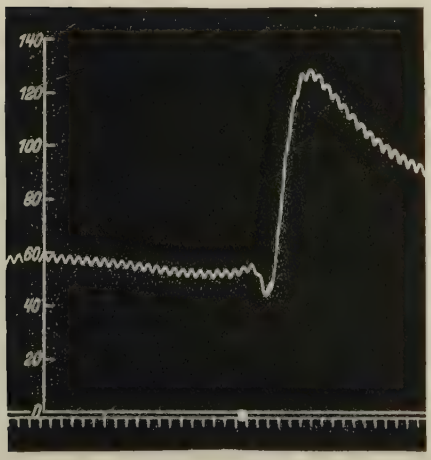


Abb. 1. Katze, ♀, 3250 g, dekapitiert mit dem Ecraseur nach Heymans. Marke: 0,5 mg Chinuclidinhydrochlorid. Zeitmarken 30 Sekunden.

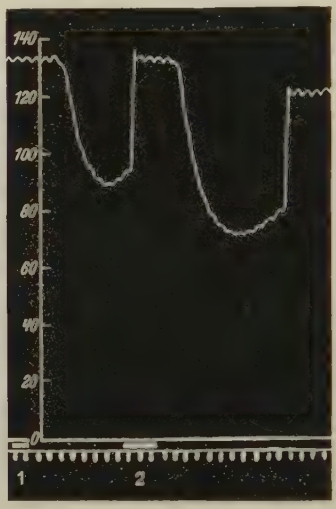


Abb. 2. Katze, ♀, 2380 g, Äthernarkose. Bei 1: 1 γ Bicyclo-[1, 2, 2]-thianiumheptan-chlorid; bei 2: 1 γ Azetylcholin „Roche". Zeitmarken 30 Sekunden.

beträgt bei weißen Mäusen 1 γ/20 g, Kaninchen sind resistenter als Mäuse, bei ihnen beträgt die M.D.L. intravenös 0,25 mg/1 kg.

Die Wirkung auf das isolierte Froschherz nach Straub ist nicht ausgeprägt. Am wirksamsten erwiesen sich die beiden Stickstoffverbindungen (2) und (8), welche in der Konzentration 1 : 10000 die sistolische Kontraktion verringern.

Die Wirkung auf den Blutdruck wurde zuerst für alle Verbindungen auf dem Kaninchen in Äthylurethannarkose (1 g/1 kg) untersucht. Die Arterienkanüle wurde in die Arteria carotis oder femoralis, die Injektionskanüle in die Vena femoralis eingeführt. Durch Zugabe von Chlorazol in

die Franckesche Kanüle wurde die Blutgerinnung verhindert. Die untersuchte Substanz wurde zuerst in Mengen, welche der D.L.M. für weiße Maus von 20 g gleich waren (s. Tabelle 1) verabreicht. In allen Fällen konnte eine vorübergehende Blutdruckdepression beobachtet werden; die quantitativen Unterschiede waren jedoch sehr groß. Die stärkste Wirkung übten wieder die vier giftigsten Verbindungen (2), (7), (8) und (10) aus. Nach der Vagusdurchschneidung konnte abermals eine wenn auch kleinere Blutdruckverminderung konstatiert werden, wobei nur das Chinuclidin (2) eine Ausnahme bildete, da es nach der Vagusdurchschneidung eine Blutdrucksteigerung hervorrief. Diese Umkehrung der Wirkung konnte auch bei der dekapitierten Katze beobachtet werden (Abb. 1). Eine besonders intensive Wirkung auf den Blutdruck übt die schwefelhaltige Substanz (10), das Bicyclo-[1, 2, 2]-thianium-heptan-chlorid, aus. Zum quantitativen Vergleich wurde die Wirkung dieser Verbindung mit der des Azetyl-cholins auf der Katze verglichen (Abb. 2). Durch Atropinum sulfuricum (1 mg/1 kg) konnte diese Depression ebensowenig wie bei der dekapitierten Katze vollkommen entfernt werden. Bei weiterem Studium der Verbindung (10) haben wir durch die Onkometrie des Herzens nach Rothberger[13] feststellen können, daß das Herz stark dilatiert wird, die Onkometrie der Leber nach Mauthner-Pick, modifiziert nach Henze-Jarisch[14], zeigte hingegen eine Kontraktion dieses Organs. Ebenso konnte eine kontrahierende Wirkung auf das Splanchnicus-Gebiet an einem Froschpräparat nach Fröhlich[15] nachgewiesen werden. Es scheint demnach, daß die Verbindung (10) auf die Muskulatur der Blutgefäße in dem Sinne einwirkt, daß sie auf die peripherischen Gefäße eine dilatierende, auf das Splanchnicus-Gebiet eine kontrahierende Wirkung ausübt.

Die Wirkung auf die glatte Muskulatur wurde auf dem Dünndarm des Meerschweinchens und auf der Dorsalmuskulatur des Blutegels nach Führer[16] untersucht.

a) Die Wirkung auf den Dünndarm des Meerschweinchens wurde in einer Tyrode-Lösung, die bei 38° mit Sauerstoff durchperlt wurde, untersucht; Anfangskonzentration der untersuchten Substanz: 1 : 10000. Die nichtsubstituierten in 1, 4-Stellung überbrückten bicyclischen Verbindungen (2), (7), (8) und (10) zeigten dabei eine kontrahierende Wirkung. Die Verbindung (10) zeigt auch hier die maximale Wirksamkeit, indem sie noch in einer Verdünnung von 1 : 400000 deutlich kontrahiert; diese Kontraktion läßt sich durch Atropin entfernen.

b) Für die Untersuchung an der Dorsalmuskulatur des Blutegels wurden 10 Segmente des Vorderteils in der Lösung nach Amon und Kwiatkowsky[17], welche während des Versuchs mit Sauerstoff durchperlt wurde, untersucht. Die Verbindungen (2), (7), (8) und (10) waren am stärksten

[13] Pflügers Arch. **118**, 253 (1907). — [14] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 30 (1939). — [15] Zbl. Physiol. **27**, 205 (1913). — [16] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **82**, 81 (1917). — [17] Pflügers Arch. **234**, 269 (1934).

wirksam, aber auch andere, wie z. B. (3), (4), (5), (9) und (11) zeigten in der Konzentration 1 : 10000 eine ausgeprägte kontrahierende Wirkung. Die wirksamste Verbindung (10) führte noch in der Konzentration von 10^{-6} zu deutlichen Kontraktionen; bei unserer Versuchstechnik stimmt diese Grenzkonzentration reihenmäßig mit der des Azetylcholins überein.

Die Wirkung auf die motorischen Nervenendigungen wurde auf dem Musculus gastrocnemius des Frosches nach der klassischen Methode von Claude Bernard untersucht. Es wurden immer 10 mg Substanz auf je 40 g Frosch in den Lymphensack injiziert. Alle quartären Ammoniumsalze (3), (9), (13) und (15) zeigten dabei eine ausgeprägte paralysierende Wirkung auf die motorischen Nervenendigungen (Curare-Wirkung). Diese Befunde stehen im Einklang mit bekannten Beobachtungen an quartären Ammoniumsalzen, die sich durch eine besonders ausgeprägte Curare-Wirkung auszeichnen[18]. Von den tertiären Basen erwies sich nur noch das β-Äthylchinuclidin (6) als schwach wirksam. Die bicyclischen Sulfoniumsalze (7) und (10) zeigten keine paralysierende Wirkung und sind in dieser Richtung ähnlicher den tertiären Basen als den quartären Ammoniumsalzen.

Verschiedenes. Die vier wirksamsten Verbindungen (2), (7), (8) und (10) beeinflussen nicht den Blutzuckergehalt des Kaninchens. Das Chinuclidin (2) wurde auch auf Antimalariawirkung nach Roehl[19] geprüft, es wurde erwartungsgemäß keine Verzögerung des Auftretens des Plasmodium relictum im peripherischen Blute der Kanarienvögel nachgewiesen, angewandt wurden $6 \times 0{,}35$ mg.

Die vorläufigen Versuche mit den Verbindungen (2) und (8) führte Herr Prof. Béla Issekutz, Budapest, aus, dem wir auch an dieser Stelle für die Mitteilung seiner Resultate unseren Dank aussprechen. Er hat neben den von uns studierten Wirkungen dieser Verbindungen noch die Wirkung auf die Körpertemperatur des Kaninchens untersucht. Auf die normale Körpertemperatur des Kaninchens zeigten beide Verbindungen in ungiftigen Dosen (10 mg/1 kg) keinen nennenswerten Einfluß. Wenn Fieber durch Einspritzungen von Bacterium coli-Kulturen künstlich hervorgerufen wurde, konnte die erhöhte Temperatur nur in geringem Maße herabgesetzt werden.

Zusammenfassung.

1. Es wurden Salze von 12 bicyclischen Basen mit Stickstoff und zwei bicyclische Sulfoniumsalze mit Schwefel an der Verzweigungsstelle des bicyclischen Systems untersucht. Von den untersuchten Verbindungen waren Chinuclidin-hydrochlorid (2), Thio-chinuclidin-bromid (7), Bicyclo-[1, 2, 2]-aza-1-heptan-hydrochlorid (8) und Bicyclo-[1, 2, 2]-thianium-heptan-chlorid (10) die pharmakologisch wirksamsten.

[18] Heffter: Handbuch der Pharmakologie, Bd. I, S. 564. Berlin 1923. — [19] Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. **30**, 311 (1926).

2. Die vier genannten Verbindungen erniedrigen stark den Blutdruck des Kaninchens und der Katze, sie kontrahieren stark die glatte Muskulatur, z. B. den Dünndarm des Meerschweinchens oder die Dorsalmuskulatur des Blutegels.

3. Der Austausch von Stickstoff in den bicyclischen Aminen (2) und (8) gegen Schwefel führt zur Vergrößerung der Toxizität und der Wirksamkeit. Die Verbindung (10), das Bicyclo-[1, 2, 2]-thianium-heptanchlorid, ist eine der giftigsten einfacheren Verbindungen. Sie vermindert den Blutdruck und kontrahiert die Dorsalmuskulatur des Blutegels reihenmäßig ebenso stark wie das Azetyl-cholin.

4. Diejenigen untersuchten Verbindungen, welche der Konstitution nach quartäre Ammoniumsalze sind: (3), (9), (13) und (15), zeigen eine stark paralysierende Wirkung auf die motorischen Nervenendigungen (Curare-Wirkung). Die Sulfoniumsalze (7) und (10) zeigen keine curareartige Wirkung.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel.

Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica.

VII. Über die temperatursteigernde Wirkung einiger Sympathicomimetica.

Von

Hans-Joachim Kiessig.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Dezember 1940.)

In den vorangegangenen Mitteilungen konnte nachgewiesen werden, daß ephedrinähnlich gebaute Sympathicomimetica in großen Dosen die Wirkung von Adrenalin in ähnlicher Weise aufheben wie erheblich kleinere Dosen von Ergotamin[1]. Mit diesen Befunden wurde die Hypothese gestützt, daß die sympathicolytische Wirkung des Ergotamins als Belegung spezifischer sympathischer Grenzflächen mit Ergotaminmolekülen aufgefaßt werden kann. Es wird die Annahme zugrunde gelegt, daß die Stoffe, die an der Grenzfläche durch Adsorption zur Wirkung gelangen, diese Grenzfläche dann blockieren, wenn sie an ihr haftenbleiben und nicht durch chemische Veränderung unwirksam gemacht werden. Dieser Mechanismus kann in entsprechender Abstufung zur chemischen Deutung des Phänomens der Tachyphylaxie herangezogen werden. Dann wird die Sympathicolysis der Extremfall der durch Sympathicomimetica hervorgerufenen Tachyphylaxie.

Zur Stützung der Grundlage der vorgetragenen Auffassung ist der Nachweis nötig, daß das Ergotamin als Sympathicomimeticum gelten kann. Dafür sprechen viele Einzelbefunde der Literatur. Wir haben sie durch vergleichende Versuche ergänzt, die auf unsere Fragestellung speziell zugeschnitten waren. In Umkehrung der Fragestellung, die oben auseinandergesetzt wurde, konnte der Nachweis erbracht werden, daß Ergotamin sich in vieler Hinsicht wie die ephedrinähnlich gebauten Stoffe verhielt[2]. Untersuchungen an den Deckzellen des Meerschweinchennetzes[3], einem ganz „peripheren" und dazu noch muskelfreien Material ergaben eine qualitative Übereinstimmung von Ergotamin mit Adrenalin, Sympatol, Ephedrin und anderen ephedrinähnlichen Stoffen.

Wir haben nunmehr die Wirkung der uns interessierenden chemischen Stoffe auf die Wärmeregulation untersucht. Die temperatursteigernde

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 237, 245 (1940). — [2] Ebenda S. 253. — [3] Niessing: Z. Zellforsch. usw. **28**, 238 (1938); Niessing u. Orzechowski: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 473 (1940).

Wirkung gewisser Sympathicomimetica ist allgemein bekannt. Über das Adrenalin sind die Meinungen der einzelnen Untersucher zwar nicht völlig übereinstimmend, es überwiegt jedoch die Anerkennung der temperaturerhöhenden Wirkung. Die Entscheidung, ob der Angriff dabei zentral oder peripher erfolgt, ist noch nicht möglich. Trendelenburg[4] diskutiert die Frage, ob Adrenalin neben der zweifellos vorhandenen peripheren Anregung der Wärmebildung auch einen Einfluß auf das Wärmeregulationszentrum hat. Wenn auch die Frage des Angriffspunktes noch nicht restlos geklärt ist, haben wir uns aus äußeren Gründen und der Einfachheit der Methodik wegen zu diesen Untersuchungen entschlossen. Die Bewegung der Temperatur läßt bei stabilen chemischen Stoffen wenig Störungen durch unbekannte Gegenregulationen des Körpers erwarten.

Die untersuchten Substanzen waren:

(−)-l-Phenyl-2-methylaminopropan-1-ol-hydrochlorid = l-Ephedrin,
(rac.)-l-p-Oxyphenyl-2-methylaminoaethan-1-ol-tartrat = „Sympatol"*.
(rac.)-l-Phenyl-2-aminopropan-sulfat = Benzedrin,
(rac.)-l-p-Oxyphenyl-2-methylaminopropan-sulfat = „Veritol"*,
(+)-l-Phenyl-2-methylaminopropan-hydrochlorid = „Pervitin"*,
ac-Tetrahydro-β-naphthylaminhydrochlorid**.

Die temperatursteigernde Wirkung nach β-Tetrahydronaphthylamin ist ebenfalls allgemein bekannt. Für die temperaturerhöhende Wirkung der ephedrinartigen Körper bringt die Literatur nur spärliche Hinweise. Chen und Schmidt[5] beobachteten im Tierexperiment keine Temperaturwirkung des Ephedrins. Ding[6] sah beim Kaninchen auf 10 mg/kg eine Erhöhung der Körperwärme. Seeber[7] beschreibt eine antipyretische Wirkung des Ephetonins bei Fällen von schwerer gonorrhoischer Sepsis. Nach Schoen[8] erzeugen 20 mg Benzedrin per os beim Menschen eine Temperatursteigerung bis zu 1°. Beim Veritol bleibt nach Zipf[9] die Körpertemperatur nach nicht toxischen Gaben innerhalb physiologischer Grenzen. Beim Pervitin trat in der Mehrzahl der Rattenversuche von Hauschild[10] nach Injektion letaler und toxischer Dosen eine starke Hyperthermie auf. Seifert[11] beobachtete beim Menschen, insbesondere bei höheren Dosen, einen geringen Temperaturanstieg um etwa 0,5°; bei

* Warenzeichen. — Für die freundliche Überlassung der notwendigen Versuchsmengen der einzelnen Substanzen danken wir den Herstellerfirmen: C. H. Boehringer-Sohn, Ingelheim; Knoll, Ludwigshafen; E. Merck, Darmstadt; Nordmarkwerke, Hamburg; Sandoz A.-G., Nürnberg; Temmlerwerke, Berlin-Tempelhof. Wir werden im folgenden der Kürze halber die geschützten Namen verwenden.

** Das Präparat war zur Zeit im Handel nicht zu erhalten. Wir schulden daher Herrn Dr. Scheuing, Ingelheim, der es uns liebenswürdigerweise hergestellt hat, ganz besonderen Dank.

[4] Heffters Handb. II, 2, S. 1272. — [5] J. Pharmacol. (Am.) **24**, 339 (1924). — [6] Z. exper. Med. **65**, 557 (1929). — [7] Münch. med. Wschr. **1933**, S. 497. — [8] Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **1938**, S. 100. — [9] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 679 (1938). — [10] Klin. Wschr. **1938**, S. 1257; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 465 (1938). — [11] Dtsch. med. Wschr. **1939**, S. 913.

kleineren Dosen blieben die Temperaturen normal. Für unsere Fragestellung war es indessen wichtig, möglichst viele verschiedene Vertreter eines Substanztyps an demselben Tiermaterial miteinander hinsichtlich ihrer Temperaturwirksamkeit zu vergleichen und diese zur Toxizität in Beziehung zu setzen. Wenn sich herausstellt, daß die temperatursteigernde Wirkung der untersuchten Sympathicomimetica ihrer allgemeinen Wirksamkeit entspricht, dann ist eine besondere Spezifität im Angriffspunkt bei einzelnen der untersuchten Stoffe für den vorliegenden Fall unwahrscheinlich geworden.

Unsere Versuche wurden an Mäusen und Kaninchen durchgeführt. Zur Ausschaltung der starken Spontanschwankungen der Körpertemperatur der Mäuse wandten wir den von Heubner und Silber[12] eingeführten Kunstgriff an, die Tiere in einem Wärmeschrank dauernd bei einer konstanten Temperatur von 25° C zu halten. Die Mäuse wurden nach einer Eingewöhnungszeit von mehreren Tagen in den Versuch genommen. Die Temperaturmessung erfolgte rektal mit einem Thermoelement über ein Spiegelgalvanometer, so daß die Ablesungen rasch und bequem zu machen waren. Die Tiere wurden nach Einstellung in den Versuch tagsüber alle Stunden gemessen. Dabei ergab sich, daß etwa 20% der Mäuse auch unter diesen Bedingungen spontane Temperaturschwankungen von 2—3° C aufwiesen. Die übrigen 80% hatten eine durchschnittliche Temperaturbewegung von etwa 0,75°. Diese Tiere wurden zu den Versuchen benutzt.

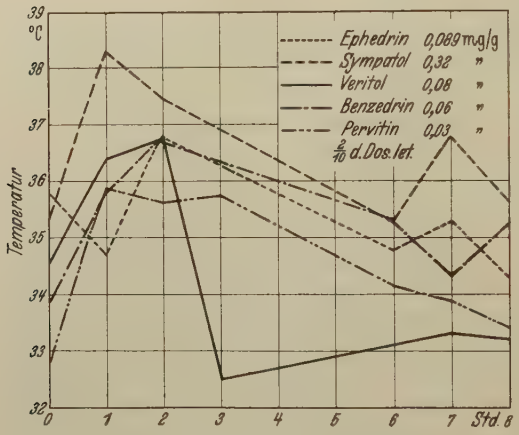


Abb. 1. Mäuseversuche.

Die untersuchten Präparate wurden subcutan injiziert. Die Prüfung erfolgte bei jeder einzelnen Versuchsserie an 8 Tieren, 3 Tiere wurden zur Kontrolle der Konstanz der äußeren Bedingungen ohne Behandlung mitgemessen. Die untersuchten Substanzen wurden in Mengen von jeweils $^1/_5$ der tödlichen Dosis appliziert.

Bei dieser Dosierung erzeugten alle untersuchten Substanzen eine ziemlich übereinstimmende Bewegung der Körpertemperatur. Wie aus Abb. 1 hervorgeht, erzeugten sie eine Temperatursteigerung um 2—3° C im Verlaufe von 1—2 Stunden.

[12] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 530 (1933).

Um den Vergleich der temperatursteigernden Wirkung mit der allgemeinen Wirksamkeit dieser Substanzen durchführen zu können, wurden ihre mittleren tödlichen Dosen an demselben Tiermaterial bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt und mit den Daten der Literatur verglichen.

Tabelle 1. Tödliche Dosen für weiße Mäuse in mg/g bei subcutaner Zufuhr.

l-p-Sympatol	0,7 — 0,8 (Kuschinsky[13])	rac.-p-Symp. tartrat	1,65	(eigene Bestimmung).
Ephedrin	0,5 (Fuji[14])		0,455	
Veritol	0,455 (Biehler[15])		0,4	
Benzedrin	etwa 0,025 (Halpern[16])		0,3	
Pervitin			0,15	

Aus den Mäuseversuchen läßt sich der Schluß ziehen, daß die Wirkung der untersuchten Substanzen auf die Körpertemperatur ihrer allgemeinen Wirksamkeit parallel läuft.

Neben diesen Versuchen an weißen Mäusen wurde eine entsprechende Untersuchung an Kaninchen durchgeführt. Die Kaninchen wurden in normaler Umgebung, Ernährung und Verfassung zu den Versuchen benutzt. Die Temperaturmessung wurde in gewöhnlicher Weise rektal mit einem Quecksilber-Fieberthermometer durchgeführt. In jeder Versuchsserie wurden 3 Tiere verwendet, deren normale Temperaturbewegungen bekannt waren. Die Zufuhr der Substanzen erfolgte in diesen Versuchen auf intravenösem Wege.

Auch bei diesen Tieren hatten die verwendeten Substanzen eine durchweg erhöhende Wirkung auf die Körpertemperatur. Dabei fiel zunächst besonders die Wirkung des Pervitins auf. Die Versuchstiere wurden nach der intravenösen Zufuhr von 2,5—5 mg/kg gleich sehr erregt, die Atmung war stark beschleunigt, die Tiere führten in ihren Käfigen eigenartige Manegebewegungen aus und klopften aufgeregt mit den Hinterläufen. Bei näherer Betrachtung wiesen sie eine deutliche Mydriasis und Protrusio bulbi auf. Es kam nach 5 mg/kg zu einer Temperatursteigerung von 2° C. Dieser Versuch wurde an demselben Tier nach 3 Tagen wiederholt. Auffälligerweise zeigte sich die Temperatursteigerung dem Vorversuch gegenüber wesentlich erhöht. Das Tier, das 5 mg/kg erhielt, fing kurze Zeit nach der Injektion zu schreien an und bekam Krämpfe. Die Atmung wurde röchelnd und rasselnd. Das Tier ertrug Seitenlage. Die Sensibilität war sehr stark herabgesetzt, der Cornealreflex ließ sich nicht auslösen. Die Temperatur war auf 44° C angestiegen. Dabei wurde das Tier steif wie ein Brett. Die fortschreitende Wärmestarre verlangsamte die Atmung sehr

[13] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **156**, 305 (1930). — [14] J. orient. Med. (Mandsch.) **3**, 1 (1925); Ber. Physiol. **35**, 556. — [15] Z. exper. Med. **101**, 62 (1937). — [16] J. Physiol. et Path. gén. **37**, 597 (1939); Ber. Physiol. **116**, 143.

stark, sie wurde immer mühsamer. 50 Minuten nach der Injektion starb das Tier nach unwillkürlichem Harnabgang plötzlich unter leichten Zuckungen. Ein anderes Tier zeigte bei der ersten Injektion von 5 mg/kg eine Temperatursteigerung von 1,5° C, bei der zweiten von 1,7° C. Bei dem dritten Tier waren die entsprechenden Werte 2 und 3,5° C. Zur Erklärung dieser Erscheinungen kann zur Zeit nur angeführt werden, daß nach Cramer[17] die Giftigkeit des β-Tetrahydronaphthylamins abhängig vom Ernährungszustand der vergifteten Tiere und von der Außentemperatur ist, bei der die Versuche vorgenommen werden. Änderungen des Ernährungszustandes erscheinen uns als Erklärung der eigenen Befunde mit dem Pervitin wenig wahrscheinlich. Eher könnte eine Änderung der Außentemperatur eine Rolle gespielt haben. Die Versuche sind in der heißen

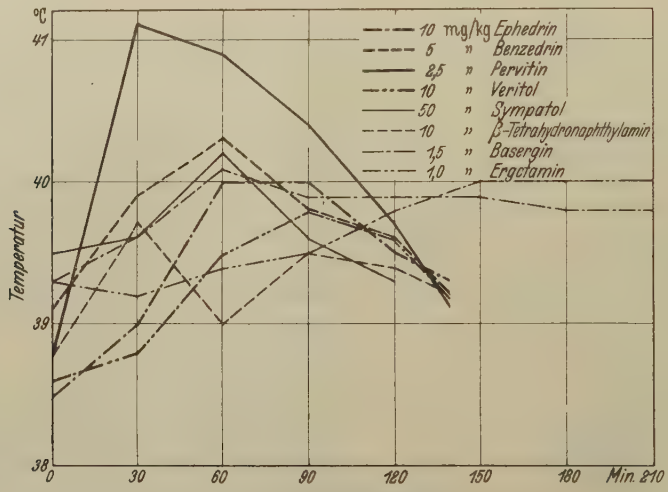


Abb. 2. Kaninchenversuche.

Jahreszeit vorgenommen worden, wo gerade in Kiel plötzliche Temperaturwechsel nicht selten sind. Leider haben wir keine Aufzeichnungen darüber gemacht.

Bei den vergleichenden Untersuchungen konnten wir aus äußeren Gründen die Toxizität der Stoffe an Kaninchen nicht selbst bestimmen. Wir waren zunächst auf Schätzungen angewiesen, die sich auf die bei Versuchen über die Kreislaufwirksamkeit der untersuchten Stoffe an Katzen gewonnenen Erfahrungen aufbauten.

Die Ergebnisse der Kaninchenversuche sind in der Abb. 2 zusammengestellt. Die Versuche wurden durch Einbeziehung von „Ergobasin" und β-Tetrahydronaphthylamin erweitert. Die Zahlen für das Ergotamin wurden der Literatur entnommen*. Die einzelnen Werte sind Durchschnitts-

[17] Brit. J. exper. Path. **1**, 31 (1920), zit. n. Trendelenburg: a. a. O., S. 1280.
* Rothlin, C. r. Soc. Biol. **119**, 1302 (1935).

zahlen aus je 3 Versuchen. Um die Ergebnisse mit der Allgemeinwirksamkeit der untersuchten Stoffe vergleichen zu können, werden im folgenden die in der Literatur bekannt gewordenen tödlichen Dosen beim Kaninchen zusammengestellt:

Tabelle 2. Tödliche Dosen für Kaninchen in mg/kg.

Ephedrin	50	(intravenös-Chen[18], Nagel[19], Launoy u. Nicolle[20]).
	50 — 60	(Schaumann[21]).
Benzedrin	20	(Halpern[22]).
Veritol	48	(intravenös-Biehler[23]).
Pervitin	15 — 25	(Hauschild[24]).
β-Tetrahydronaphthylamin	50	(Stern[25], Günsburg[26]).
Ergotamin	2	(vgl. Barger[27]).
Ergometrin	6	(vgl. Barger[27]).

Der Vergleich der Ergebnisse der Temperaturmessungen mit den der Literatur entnommenen tödlichen Dosen zeigt, daß bei Ephedrin, Benzedrin, Veritol, Ergobasin und β-Tetrahydronaphthylamin die Temperaturwirkung der Abb. 2 durch $^1/_4$—$^1/_5$ der tödlichen Dosis hervorgerufen worden ist. Das Pervitin fällt zunächst aus der Reihe. Herr Hauschild teilte uns mit, daß nach seiner Erfahrung die Empfindlichkeit der Kaninchen gegen Pervitin mitunter erheblich schwankt, daß es ferner sehr wesentlich ist, in welcher Konzentration und mit welcher Geschwindigkeit das Präparat appliziert wird. Es muß daher auf unsere oben mitgeteilte Erfahrung hingewiesen werden, wonach ein Kaninchen nach 5 mg/kg Pervitin eine tödlich endigende Überhitzung erlitten hat. Danach kann zunächst angenommen werden, daß für unser Tiermaterial auch die mit dem Pervitin erhaltenen Resultate im Rahmen der allgemeinen Wirksamkeit dieses Stoffes liegen. Für das racemische p-Sympatol sind uns keine tödlichen Dosen vom Kaninchen bekannt geworden. Die Wirksamkeit dieses Stoffes auf die Körpertemperatur war in unseren Versuchen relativ gering. Nach den Angaben der Literatur entsprechen die zugehörigen Adrenalindosen der Erwartung. Als tödliche Dosis für das Kaninchen werden bei intravenöser Injektion 0,05—0,4 mg/kg Adrenalin angegeben (vgl. Trendelenburg[28]). Da die Dosenabstände bei den meisten Beobachtern weniger weite Schwankungen aufweisen, wird man mit einer tödlichen Dosis um 0,1—0,2 mg/kg rechnen dürfen. Wenn nach Freund[29], Döblin und Fleischmann[30], Cloetta und Waser[31] die Temperatur

[18] Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **22**, 203 (1924); **21**, 351 (1924); **1925**, 404, 568, 570. — [19] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **110**, 219 (1925). — [20] C. R. Soc. Biol. **99**, 3 (1928). — [21] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 138 (1931). — [22] a. a. O. — [23] a. a. O. — [24] Persönliche Mitteilung. — [25] Virchows Arch. **115**, 14 (1889); **117**, 418 (1889). — [26] Ebenda **124**, 75 (1891). — [27] In Heffter, Handb. exper. Pharmak., Erg.-Werk, Bd. VI, S. 84 ff. Berlin 1938. — [28] a. a. O., S. 1274. — [29] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **65**, 225 (1911). — [30] Z. Klin. Med. **78**, 275 (1913). — [31] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **79**, 30 (1917).

des Kaninchens nach intravenöser Zufuhr von 0,025—0,05 mg in der Regel um 1° C ansteigt, dann fügt sich das Adrenalin dosenmäßig in die hier beschriebenen Beziehungen ein. Nach Behrens und Taeger[32] ist der Wirksamkeitsabstand des l-p-Sympatols vom Adrenalin am Kreislauf etwa 1 : 100. Nach Kuschinsky[33] ist die Blutdruckwirksamkeit des dl-p-Sympatols etwa halb so groß wie die des l-p-Sympatols. Wenn man überdies das Molekulargewichtsverhältnis von l-p-Sympatolhydrochlorid zu rac.-p-Sympatoltartrat mit etwa 1 : 1,7 einrechnet, dann gehen auch die durch unseren Stoff hervorgerufenen Temperatursteigerungen in den Bereich der sonst erhaltenen Resultate noch ein. Die Wirksamkeit von Ergotamin liegt an der unteren Grenze.

Aus den mitgeteilten Kaninchenversuchen kann damit der Schluß gezogen werden, daß die temperatursteigernde Wirkung der untersuchten Stoffe ihrer allgemeinen Wirksamkeit entspricht.

Zusammenfassung.

1. Vergleichende Versuche über die temperatursteigernde Wirkung einer Reihe von sympathicomimetischen Substanzen an Mäusen und Kaninchen werden beschrieben.

2. Die temperatursteigernde Wirkung der untersuchten Stoffe entsprach bei Mäusen und Kaninchen ihrer allgemeinen Wirksamkeit.

3. Die temperatursteigernde Wirkung der Secalealkaloide Ergotamin und Ergometrin gliedert sich in die mit den anderen Sympathicomimetica gewonnenen Resultate ein.

4. Die mitgeteilten Befunde stützen die Auffassung, daß in dem Wirkungsbilde der Secalealkaloide eine deutliche sympathicomimetische Komponente enthalten ist.

---

[32] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 64 (1935). — [33] a. a. O.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel.

Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica.

VIII. Über die Beeinflussung der Schmerzempfindlichkeit durch Sympathicomimetica.

Von

Hans-Joachim Kiessig und **Gerhard Orzechowski.**

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Dezember 1940.)

Der Schmerz gehört zu den Gebieten der Physiologie, die nur langsame Fortschritte aufweisen. Das liegt zum guten Teil daran, daß nur die hochentwickelten Tiere Ausdrucksvermögen für diese Qualität des Gefühls besitzen. Bei den niederen Tieren sind an seiner Stelle wohl vorwiegend Reflexe eingebaut. Bei Wesen mit gering entwickelten Großhirnfunktionen wird allein durch reflektorische Verknüpfungen eine ausreichende Sicherung des Gesamtorganismus vor Schäden gewährleistet. Die Entwicklung der Großhirnfunktionen läuft in der entgegengesetzten Richtung. Beim Menschen beobachtet man daher schon eine weitgehende Lockerung des Reflexzwanges. Dann gewinnen selbst so primitive Leistungen wie die der Schmerzempfindung immer größere Bedeutung.

Die Physiologie des Schmerzes ist noch ganz erfüllt von der Controverse, die sich an die Meinungen von v. Frey und Goldscheider angeschlossen hat. Das Für und Wider dieser Ansichten soll hier jedoch nicht erörtert werden. Neuerdings hat sich Rein[1] grundsätzlich zu diesem Problem geäußert. Er betrachtet die eigentlichen physiologischen Aufgaben des Schmerz-Nervenapparates als die eines ausgebreiteten „Kontroll- und Reflexmechanismus, über den unter Umständen auch verhältnismäßig primitive Empfindungen im Sinne von Alarmsignalen bis ins Bewußtsein vordringen können. Seine Hauptaufgabe ist die Überwachung des normalen Stoffwechsels aller Gewebe." Hansen[2] spricht in diesem Zusammenhange von den „nociceptiven Aufgaben des Schmerzapparates".

Wie Sauerbruch[3] dargetan hat, ist das Verhalten der einzelnen Menschen dem Schmerz gegenüber außerordentlich verschieden. Den Pharmakologen interessiert in der gleitenden Skala zwischen Steigerung und Minderung der Schmerzempfindung besonders die Seite der Minderung. Dabei soll von dem anatomisch bedingten „Wundstupor" ab-

[1] Schmerz usw. **12**, 129 (1939). — [2] Reflektorische und algetische Krankheitszeichen der inneren Organe. Leipzig 1938. — [3] Wesen und Bedeutung des Schmerzes. Berlin 1937.

gesehen werden. Auch die von Sauerbruch diskutierte Form der Herabsetzung der Schmerzempfindung, wo das Denken von Menschen „nicht einmal mehr für die primitiven vegetativen Lebensfunktionen" ausreicht, ist nicht sicher genug zu übersehen, um zu einer experimentellen Bearbeitung anzuregen. Dagegen bildet die „andere Form des seelischen Wundstupors", den nicht „Ermüdung, Abstumpfung und seelische Lähmung oder Gewöhnung" auslöst, „sondern im Gegenteil letzte Anspannung oder begeisterte Hingabe an die Idee", eine Möglichkeit der experimentellen Analyse, so merkwürdig das im Anfang klingen mag. Die Beispiele, die Sauerbruch aufführt, lassen sich leicht vermehren. Bekannt sind die Zustände religiöser Exaltation aus der Geschichte der Märtyrer. Der Indianer am Marterpfahl, der uns bei der Lektüre des Karl May immer wieder mit gruseliger Bewunderung erfüllt, gehört auch hierher. Sehr wichtig erscheint uns, daß ähnliche Zustände auch aus dem Tierreich bekannt geworden sind. Dafür möge Brehm[4] sprechen: „Der durch einen Schuß verwundete Fuchs klagt selten; gelegentlich sieht man ihn auffallende Taten verrichten: Winkell hatte mit der Kugel einem Fuchse den Vorderlauf dicht unterm Blatt entzweigeschossen. Beim Ausreißen schlug ihm dieser immer um den Kopf; darüber ärgerlich, fuhr er mit der Schnauze herum, biß den Lauf schnell ab und war nun ebenso flüchtig, als fehle ihm nichts."

Die aus dem Tierreich bekanntgewordenen Fälle weisen vielleicht einen Weg. Die experimentellen Ergebnisse der Untersuchungen von Cannon lassen sich so auffassen, daß der tierische Körper auf außergewöhnliche Erfordernisse mit außergewöhnlichen Maßnahmen reagiert. Cannon hat die Bezeichnung „Notfallfunktionen" dafür geprägt. Sie verlaufen über eine Erregung des sympathischen Nervensystems und mit Ausschüttung von Adrenalin aus den Nebennieren. Die Gesamtheit aller Notfallfunktionen kann man vielleicht am zweckmäßigsten einen Notstand des Organismus nennen. Es entsteht jener Zustand der vibrierenden Spannung des gesamten Tierkörpers, den alle Experimentatoren schon bei der Katze immer wieder beobachten können. Diese Tonisierung des gesamten sympathischen Systems ist für das Tier im Notstand offenbar von größtem Nutzen. Die finale Denkweise ist nun leicht geneigt, hinzuzufügen: im Rahmen des Notstandes des Organismus wäre eine Herabsetzung der Schmerzempfindlichkeit ebenfalls eine sehr zweckmäßige Notfallfunktion.

Anatomische, physiologische und klinische Erkenntnisse ebnen diesem Gedanken anscheinend die Wege. Vieles spricht nämlich dafür, daß die schmerzleitenden Fasern zum vegetativen Nervensystem zu rechnen sind. Strümpell[5] rechnet die Schmerzempfindung innerer Organe „aller Wahrscheinlichkeit nach" zu den Leistungen des sympathischen Nerven-

[4] Brehms Tierleben, Bd. **12**, S. 180. Leipzig u. Wien 1920. — [5] Pflügers Arch. **201**, 306 (1923).

systems und äußert die Vermutung, daß auch die Schmerzempfindungen der Haut über sympathische Nerven geleitet werden. Foerster [6] hat auf die Tatsache hingewiesen, daß auch nach Resektion aller in Betracht kommenden hinteren und vorderen Wurzeln einer Extremität der Schmerz noch fortdauern kann. Läwen [7] führt als Verfechter der Auffassung der Leitung der Schmerzempfindung durch sympathische Nervenelemente Müller, v. Bergmann, Lehmann, Kuhlenkampf und Foerster an. Rein [8] erwähnt in diesem Zusammenhang die Befunde von Zotterman, wonach für die Schmerzleitung nur die langsamst leitenden Fasern in Frage kommen.

Wir haben versucht, die aufgeworfene Frage im pharmakologischen Experiment zu beantworten. Dabei wurde die Fiktion einer Einbeziehung der Schmerzempfindung in das Notfallsystem zugrunde gelegt. Der Mechanismus der Notfallfunktionen verläuft nach den Ergebnissen der Cannonschen Schule über eine Ausschüttung von Adrenalin aus den Nebennieren. Wir haben bei unseren Versuchen das Adrenalin nicht benutzt. Seiner kurzdauernden Wirkung wegen, und weil wir Störungen von Seiten der vielen, im pharmakologischen Experiment möglichen Nebenwirkungen befürchteten, haben wir die im folgenden zu beschreibenden Versuche mit sympathicomimetischen Substanzen durchgeführt, deren Wirkung nicht so jäh und stoßartig verläuft. Die verwendeten Substanzen waren:

(−)-l-Phenyl-2-methylaminopropan-1-ol-hydrochlorid = l-Ephedrin,
(rac.)-l-p-Oxyphenyl-2-methylaminoaethan-1-ol-tartrat = „Sympatol"*,
(rac.)-l-Phenyl-2-aminopropan-sulfat = Benzedrin,
(rac.)-1-p-Oxyphenyl-2-methylaminopropan-sulfat = „Veritol"*.
(+)-l-Phenyl-2-methylaminopropan-hydrochlorid = „Pervitin"*,
ac-Tetrahydro-β-naphthylaminhydrochlorid,
Ergotamintartrat.

Die Stoffe wurden meist intravenös in die über das Fußgelenk hinweglaufende Hautvene den Hunden injiziert.

Zur Bestimmung der Schmerzempfindlichkeit benutzten wir die elektrische Reizung der Zahnpulpa (Heinroth [9], Hesse und Reichelt [10], Freund [11]) beim Hunde (Koll [12]). Im einzelnen war das Vorgehen so, wie

---

[6] Die Leitungsbahnen des Schmerzgefühls und die chirurgische Behandlung der Schmerzzustände. 1927. — [7] Der Schmerz und neuere Wege seiner chirurgischen Bekämpfung. 1933. — [8] Schmerz usw. **12**, 129 (1939). — [9] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **116**, 245 (1926). — [10] Ebenda **169**, 453 (1933). — [11] Ebenda **180**, 209 (1936). — [12] Ebenda **190**, 687 (1938).

* Warenzeichen. — Für die freundliche Überlassung der notwendigen Versuchsmengen der einzelnen Substanzen danken wir den Herstellerfirmen: C. H. Boehringer-Sohn, Ingelheim; Knoll, Ludwigshafen; E. Merck, Darmstadt; Nordmarkwerke, Hamburg; Sandoz, Nürnberg; Temmler, Berlin-Tempelhof. Wir werden im folgenden der Kürze halber die geschützten Namen verwenden.

Behrens und Reichelt[13] es in zahlreichen Versuchen erprobt hatten (vgl. Schaltskizze Abb. 1). Durch 2 einander gegenüberliegende Bohrungen am Eckzahn eines Hundes wurden mittels feiner Nickelelektroden Entladungen eines Plattenkondensatorensatzes von 20 μF geleitet, der bis 0,001 μF abgestuft werden konnte (C). Die Aufladespannung der Kondensatoren wurde durch Abgriff an einem Widerstand von 5800 Ohm gewonnen (Sp). Als Stromquelle diente das örtliche Gleichstromnetz. Die Schwankungen der Netzspannung konnten vernachlässigt werden. Die Höhe der Aufladespannung wurde mit Hilfe eines parallel geschalteten Voltmeters (Mavometer) bis auf 0,1 Volt genau eingestellt (V). Die Auf- und Entladung der Kondensatoren wurde über einen rotierenden Unterbrecher gesteuert (U). Zur Vermeidung von Polarisation an den Elektroden wurde ein Polwender eingeschaltet, der mit dem Unterbrecher gekoppelt war (P). W_1 und W_2 sind selbstinduktionsfreie Widerstände von 10000 und 5000 Ohm in der bei Chronaxiemessungen üblichen Schaltung (Lapicque[14]).

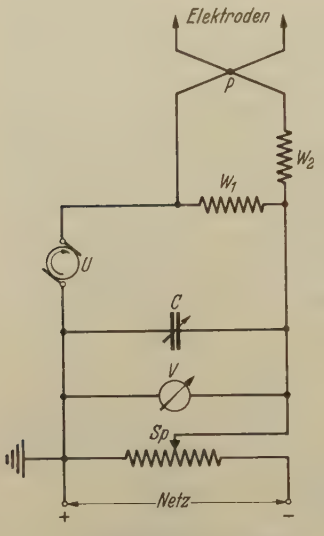


Abb. 1. Erklärungen im Text.

Die Kondensatorentladungen wurden durch zwei Nickelelektroden von 0,8 mm Dicke und 2 mm Länge geleitet, die in der Nähe der Zahnbasis des Eckzahnes einander gegenüber in die dafür bestimmten Bohrungen eingesetzt wurden. Der Reizstrom wurde durch 0,2 mm Kupferdraht, mit Ventilgummi isoliert, dem Zahn zugeleitet. Zur Vermeidung von Kriechströmen wurden die Zuleitungsstellen durch eine festsitzende Gummikappe und Isolationsmasse gegen den Speichel gesichert. Die von Koll[12] beschriebene Versuchsanordnung mit fest eingekitteten Silberelektroden und Anlegung einer Wangenfistel wurde bei einem Versuchstier nachgeahmt. Sie wurde wieder verlassen, da die Vorarbeiten und die Dressur der Tiere zu lange Zeit in Anspruch nahm. Zudem sind auch nicht alle Hunde für derartige Versuche geeignet. Unsere Versuchstiere erhielten während des Versuchs einen schmalen Holzknebel zwischen das Gebiß geschoben. Eine Hilfsperson hielt während der Reizung den Kopf des Tieres auf dem Schoß. Diese einfachen Hilfsmittel haben sich uns stets als ausreichend erwiesen.

Zunächst wurde die Chronaxie gemessen. Dazu wurde wie üblich zur Bestimmung der Rheobase bei voll eingeschaltetem Kondensator die Auf-

[13] Unveröffentlichte Versuche. — [14] L'excitibilité en fonction du temps. Paris 1926.

ladespannung gesucht, bei der die Testreaktion des Hundes gerade auftrat. Anschließend wurde zur Ermittlung der Chronaxie bei verdoppelter Rheobase der Kondensator gesucht, dessen Entladung wieder die Testreaktion auslöste.

Als Testreaktion wurden jeweils mehrere Anzeichen der Abwehr des Tieres gegen den Schmerzreiz benutzt. Die Versuchstiere wurden folgendermaßen geeicht: Zunächst wurde festgestellt, welcher Reizabstand unter der Wirkung des Analgetikums auftrat, wenn als Testreaktion lautes Wehklagen und energische Fluchtversuche des Versuchstieres gewertet wurden. Die gleichen Verhältniszahlen wurden dann für die von Koll[12] benutzte Art von Testreaktionen bestimmt. Dann wurde die erste auftretende Veränderung im Verhalten der Versuchstiere gesucht. Sie ließ sich in vielen Versuchen übereinstimmend in einer typischen Abwehrspannung der Halsmuskulatur feststellen. Es hat sich nun immer gezeigt, daß die Reizabstände unter der Wirkung des geprüften chemischen Stoffes unverändert derselbe blieb, wenn auch die verschiedenen Grade der Reaktion sehr weit auseinander lagen.

In unseren und noch unveröffentlichten Versuchen von Behrens und Reichelt wurde indessen beobachtet, daß die den Elektroden benachbarten Gewebe der Zahnpulpa um so rascher ihre Versuchsbrauchbarkeit verloren, je stärkere elektrische Reize auf sie ausgeübt wurden. Wir sind daher so vorgegangen, daß wir die meisten Versuche mit der empfindlichsten Testreaktion, d. h. mit den geringsten Elektrizitätsmengen, durchgeführt haben und die drastischen Wirkungen nur zur dauernden Kontrolle unserer Ergebnisse anwendeten. Damit wird gleichzeitig eine bessere Vergleichbarkeit mit den in der Literatur bereits niedergelegten Befunden erreicht.

Ähnliche Erfahrungen liegen auch für die Reizfrequenz vor. Auch hier zeigte sich in unseren Versuchen, daß die Zähne um so rascher unbrauchbar wurden, je höher die verwendeten Reizfrequenzen lagen. Aus den Untersuchungen von Achelis[15] ist bekannt geworden, daß die Ansprechbarkeit schmerzleitender Fasern von der Reizfrequenz abhängig ist. Sie zeigt ein Maximum bei etwa 20 Hertz. Wir konnten die Beobachtungen von Koll[12] bestätigen, wonach bei Einzelreizen beträchtlichere Reinzintensitäten ohne oder mit geringer Reaktion ertragen wurden als bei frequent rhythmisch gegebenen. Wir waren uns indessen von vornherein klar, daß bei unseren Versuchen keine so großen Ausschläge zu erwarten waren wie etwa bei Morphinversuchen. Wir haben daher die Bedingungen der Schmerzauslösung dadurch bewußt verschlechtert, daß wir durch die Herabsetzung der Reizfrequenz die Summation erschwerten. Wurden die Versuche mit der optimalen Frequenz von 20 Hertz durchgeführt, dann lagen nicht nur die Reizschwellen niedriger, auch ihre Abstände ohne und mit Einwirkung

[15] Pflügers Arch. **242**, 644 (1939).

eines wirksamen Stoffes wurden erheblich geringer. Nach den Untersuchungen von Achelis und seinen Schülern verschwinden die Schwellenunterschiede zwischen Einzel- und frequentem Reiz bei einer Erregbarkeitssteigerung des zentralen Nervensystems (z. B. im hypoglykämischen Zustand). Wir mußten bei unseren Versuchen indessen immer mit Auswirkungen einer zentralen Erregung rechnen. Die Anwendung von Einzelreizen erschien uns daher geraten, um die zentrale Erregung sicher mit zu erfassen. Auch andere Gründe bestimmten uns zur vorwiegenden Verwendung von Einzelreizen. Nach Achelis ist das Vorhandensein eines Frequenzoptimums entweder so zu erklären, daß die höheren Intensitäten bei geringeren Frequenzen mehr Fasern im Nerven in Erregung versetzen. Dann würde eine an sich unwirksame Intensität durch Erhöhung der erregten Faserzahl über eine zentrale Schwelle gehoben werden. Oder aber die höhere Intensität erfaßt auch noch andere Fasern. Nach seinen eigenen Untersuchungen, die zur Ablehnung einer faserphysiologischen Spezifität der Schmerznerven geführt haben, hält Achelis die zweite Möglichkeit für die wahrscheinlichere. Dann aber ist für unsere Untersuchungen an der Pulpa des Hundezahnes, die keine speziell nervenphysiologischen Absichten verfolgen, den tiefen Frequenzen der Vorzug zu geben. Auch aus Gründen der Schonung der Zahnpulpa haben wir im allgemeinen von der Verwendung der hohen Reizfrequenzen Abstand genommen. Eine Reihe von Versuchstieren fiel nämlich nach kurzer Zeit aus. Die Untersuchung der Zähne ist noch im Gange. Makroskopisch fanden sich nach fachmännischer Auskunft Anzeichen einer Wärmeschädigung der Pulpa.

Die Mehrzahl unserer Versuche wurden daher mit Einzelreizen, und zwar mit einem Reiz in der Sekunde bei einer jeweiligen Versuchsdauer von 5 Sekunden durchgeführt. Die so erhaltenen Ergebnisse wurden für jeden Stoff von Zeit zu Zeit durch Versuche mit optimaler Frequenz nachkontrolliert. Daneben wurden zur weiteren Kontrolle auch beide Frequenzen an demselben Tier und im Verlaufe desselben Versuchs angewendet.

Nach Bestimmung der Rheobase und der Chronaxie wurde die Konstanz der erhaltenen Werte in 3 in Abständen von 2 Minuten aufeinander folgenden Messungen nachgeprüft. Waren die Werte übereinstimmend, dann wurde die zu untersuchende Substanz in steriler Lösung injiziert. Nach der Injektion wurde mit dem Ausgangsschwellenwert gereizt. Zeigte sich keine Reaktion, dann wurde die Aufladespannung des Kondensators langsam gesteigert, bis die Reaktion wieder eintrat. An der Vermehrung der Aufladespannung wurde der Effekt der zugeführten Substanz abgelesen.

Die Ergebnisse der mit den genannten Sympaticomimeticis durchgeführten Versuche entsprachen den eingangs geäußerten Vermutungen. Alle im Rahmen dieser Untersuchung angewendeten Substanzen erhöhten die Reizschwelle für den am Hunde experimentell erzeugten Zahnschmerz. Sie wirkten also durchweg im Sinne einer Herabsetzung der Schmerz-

empfindlichkeit. Im folgenden sollen die Ergebnisse im einzelnen an Hand von typischen Beispielen besprochen werden.

Das Sympatol wurde subcutan injiziert, da wir zunächst annahmen, bei intravenöser Zufuhr würde die Wirkung zu kurze Zeit anhalten, und so die Ergebnisse nicht deutlich genug herausbringen. Wie aus Abb. 2 hervorgeht, stieg der Schwellenwert des Schmerzreizes ungefähr der bei subcutaner Zufuhr zu erwartenden Verteilung der Substanz entsprechend an.

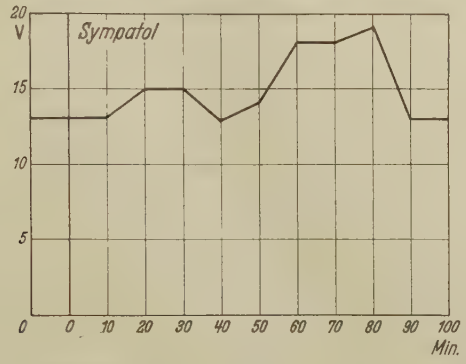


Abb. 2. Hund Flocky, 17 kg. 200 mg Sympatol subc. 22. IX. 1939.

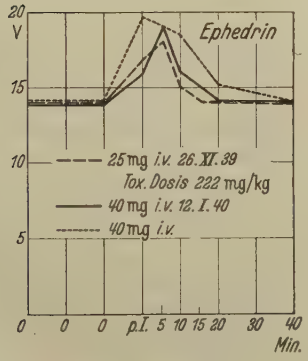


Abb. 3. Hund Prinz.

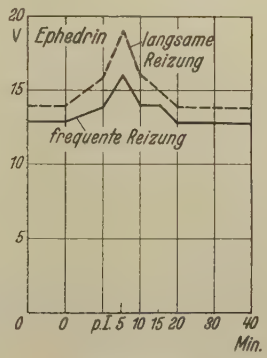


Abb. 4. Hund Prinz, 12 kg. 40 mg Ephedrin i. v. 12. I. 1940.

Der scharfe Abfall nach der 80. Minute ist allerdings zunächst nicht zu erklären.

Über die schmerzstillende Wirkung des Sympatols ist in der letzten Zeit von klinischer Seite berichtet worden. Herr Dozent Dr. Essen von der hiesigen medizinischen Klinik hat dieser Frage ebenfalls seine Aufmerksamkeit gewidmet. Er teilte uns mit, daß Sympatol die Beschwerden bei Kranken mit Magenulcus deutlich zu lindern vermochte.

Die Abb. 3 zeigt die Ergebnisse nach intravenöser Zufuhr von Ephedrin bei einem 12 kg schweren Hunde. Der Verlauf der Wirkung ist wesentlich

kürzer als im vorher beschriebenen Falle entsprechend den bei intravenöser Zufuhr zu erwartenden Verhältnissen. Die Abb. 4 ist ein Beispiel für den Abstand der Ergebnisse bei Verwendung wiederholter Einzelreize und bei salvenförmiger Reizung mit einer Frequenz von etwa 20 Hertz.

Auch vom Ephedrin berichtet die Literatur schmerzstillende Eigenschaften, wie Cochrane[16] an Schmerzen, die im Verlauf der Lepra auftraten, nachweisen konnte. Bei fieberhaften Fällen wirkte das Ephedrin

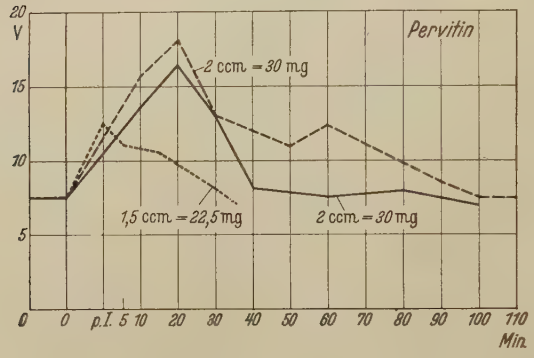


Abb. 5.

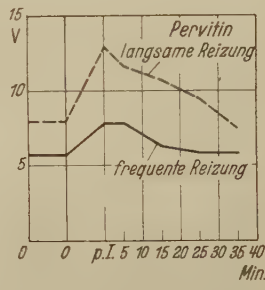


Abb. 6. Hund Syrup, 11 kg. 1,5 ccm = 22,5 mg Pervitin i. v. 9. I. 1940.

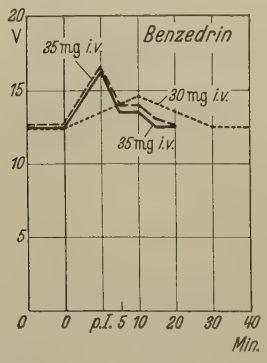


Abb. 7.

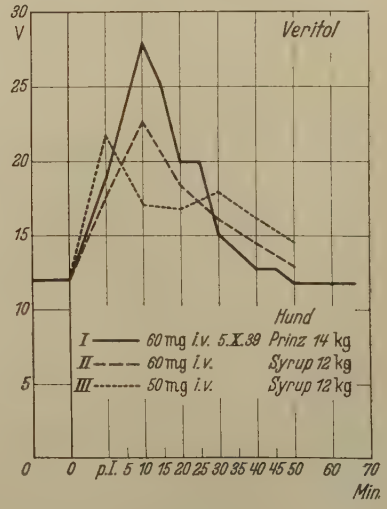


Abb. 8.

schon bei peroraler Zufuhr. Bei chronischen Fällen wurde die subcutane, bei kräftigen Patienten die intravenöse Zufuhr vorgezogen. Die subcutane Einzeldosis betrug meist 0,03 g Ephedrin. Stolkind[17] bewährte sich Ephedralin neben Adrenalin bei Kopfschmerzen allergischen Ursprungs.

Demgegenüber zeigte das Pervitin eine deutlich stärkere Wirkung. Die Reaktion eines Hundes von 11 kg auf die intravenöse Zufuhr von

[16] Lancet **1929**, S. 551. — [17] Med. Welt **1933**, S. 599.

Pervitin ist der Abb. 5 zu entnehmen. Neben der Höhe des Reizschwellenanstieges fällt besonders die lange Wirkung der Dauer auf. Abb. 6 gibt noch einen Vergleich zwischen langsamer und frequenter Reizung.

Deutlich geringer waren die Ausschläge des Benzedrins. Wie Abb. 7 ausweist, war die Erhöhung der Reizschwelle nicht sehr groß, die Dauer der Wirkung nur kurz. Bei Verwendung frequenter Reize trat keine deutliche Veränderung der Reizschwelle auf.

Die Abb. 8 enthält die Ergebnisse einiger Versuche mit Veritol. Ein Hund von 14 kg erhielt eine Dosis von 60 mg Veritol intravenös. Ein zweiter von 12 kg bekam 50 und 60 mg. Der Anstieg der Reizschwelle ist z. T. überraschend hoch, die Dauer der Wirkung entspricht etwa ihrem Ausmaß. Abb. 9 bringt den Vergleich zwischen langsamer und frequenter Reizung.

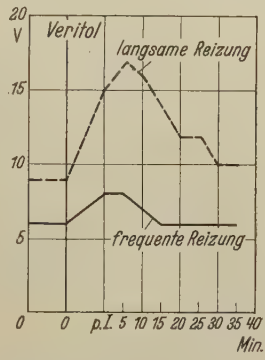


Abb. 9. Hund Syrup, 11 kg. 70 mg Veritol i. v. 13. I. 1940.

Die geschilderten Ergebnisse wurden an Hunden gewonnen. Die Methode der elektrischen Reizung der schmerzempfindlichen Elemente des Hundezahnes entspricht weitgehend den Anforderungen, die an eine experimentelle Untersuchung der Schmerzempfindlichkeit gestellt werden können. Es erschien uns indessen zweckmäßig, die Substanzen in der gleichen Richtung auch noch an anderen Tieren zu prüfen. Wenn der Mechanismus, wie wir vermuten, unter die Notfallfunktionen des tierischen Körpers zu rechnen ist, dann ist zu erwarten, daß auch Tiere mit weniger hoher Differenzierung Ausschläge im Sinne einer Herabsetzung der Schmerzempfindlichkeit zeigen werden. Wir wählten die weiße Maus und benutzten die Haffnersche Methode. Diese besteht bekanntlich darin, daß bei Mäusen durch Ansetzen einer Klemme an die Schwanzwurzel ein gleichbleibender starker Schmerzreiz gesetzt wird. Die Abstufung der Reaktion der Tiere auf diesen Reiz ist ein Maß für den empfundenen Schmerz. Es war jedoch von vornherein nicht zu erwarten, daß die Mäuse so fein reagieren würden wie die Hunde. Daher wurden auch von vornherein höhere Dosierungen gewählt, und zwar gewöhnlich die Hälfte der mittleren tödlichen Dosis.

Im folgenden werden die Ergebnisse dieser Versuche in Form von Tabellen dargestellt. Die Substanzen wurden sämtlich subcutan zugeführt. Für alle Versuche wurde dieselbe Klemme verwendet. Das Zeichen 0 bedeutet: die Versuchstiere zeigten keine Abwehr gegen den Reiz der an die Schwanzwurzel angesetzten Klemme. Das Zeichen + soll aussagen: die Tiere wurden nach Ansetzung der Klemme unruhig und machten seitlich gerichtete Bewegungen des Vorderkörpers nach dem Ort der Schmerzeinwirkung hin, ohne indessen deutliche Versuche zur Entfernung des

Fremdkörpers zu zeigen. Wurden die Tiere sehr unruhig und zeigten sie deutliche Abwehrbewegungen, dann erscheint in den Tabellen dafür das Zeichen ++. Die stärksten Zeichen der Abwehr entsprachen der vor Zufuhr der Substanzen beobachteten normalen Reaktion: die Mäuse quietschten laut, versuchten mit den Zähnen die Klemme zu entfernen und den Experimentator zu beißen. Für diese Reaktion wurde das Zeichen +++ eingesetzt.

Die Versuche mit Sympatol ergaben keine deutlichen Resultate. Dagegen konnten mit Ephedrin, Benzedrin, Veritol und Pervitin deutliche Herabsetzungen der Schmerzempfindlichkeit der weißen Maus beobachtet werden, wie aus den Tabellen 1—4 hervorgeht.

Tabelle 1. Ephedrin. 175 mg/kg mittl. tödl. Dosis = 500 mg/kg.

Zeit Min.	Tier: I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
0	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
15	++	+++	+++	0	++	++	+	+++	+++	+++
30	+	+	++	0	+	+	+	++	+	+++
45	+	+	++	0	0	++	+	++	+	+++
60	++	++	+++	0	0	++	+++	++	+	+++
75	+++	+++	+++	0	+	+++	+++	+++	++	+++
90	+++	+++	+++	0	++	+++	+++	+++	+++	+++

Tabelle 2. Benzedrin. 150 mg/kg. Mittl. tödl. Dosis = 300 mg/kg.

Zeit Min.	Tier: I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
0	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++
15	++	+	+++	++	++	++	0	++	0	0
30	++	+	++	+	0	+++	++	+++	0	+
45	+++	++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+	+
60	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+	+

Tabelle 3. Veritol. 220 mg/kg. Mittl. tödl. Dosis = 400—450 mg/kg.

Zeit Min.	Tier: I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
0	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	++	+++
15	+	+	+	+	0	+	+	+	++	+
30	+	0	0	0	0	0	0	+	0	0
45	+	0	0	0	0	0	0	+	+	+
60	0	+	+	0	+	0	+	+	+	++
75	0	+	+	+	0	+	+	+	+	++
90	++	+	++	+	0	++	+	++	+	++
105	++	++	++	+	+	++	++	++	++	++
120	+++	++	+++	++	++	++	+++	+++	++	+++

Tabelle 4. Pervitin. 75 mg/kg. Mittl. tödl. Dosis = 150 mg/kg.

Zeit Min.	Tier: I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
0	+++	+++	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++
15	++	++	0	0	+	0	0	+	0	0
30	++	++	0	0	0	+	0	+	0	0
45	++	++	0	0	0	++	0	+	0	0
60	++	++	0	0	0	++	0	++	+	0
75	++	++	tot	0	0	++	0	+	+	0
90	++	++		0	+	++	+	++	++	+
105	+++	++		0	++	++	++	+++	++	+

Die bisher geschilderten Ergebnisse sprechen für eine Herabsetzung der Schmerzempfindlichkeit durch die untersuchten Sympathicomimetica. Man könnte sie aber auch als eine eigenartige, wenn auch nicht unerwartete pharmakologische Wirkung von Substanzen mit einem bestimmten chemischen Bauprinzip auffassen. Wir haben deshalb auch noch Versuche mit einer sympathicomimetischen Substanz, deren chemische Struktur schon recht weit von der der ephedrinähnlichen Stoffe entfernt ist, dem β-Tetrahydronaphthylamin, durchgeführt.

Die Versuche am Hunde ergaben einen deutlichen schmerzlindernden Effekt. Die Abb. 10 zeigt dieses Ergebnis an 3 Kurven. Sie wurden an 2 Hunden gewonnen, 2 Versuche an demselben Tier hatten einen zeitlichen Abstand von fast 2 Monaten. Auch im Haffner-Versuch an weißen Mäusen ließ sich ein deutlicher Effekt nachweisen (Tabelle 5).

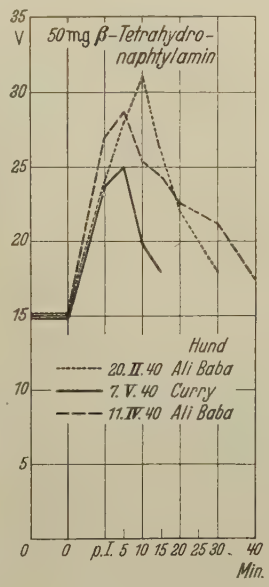


Abb. 10.

Tabelle 5. ac-Tetrahydro-β-Naphthylaminhydrochlorid. 63 mg/kg = $^5/_{10}$ der Dosis let. Dosis let. 125 mg/kg.

Zeit Min.	Tier: I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
15	0	++	+++	0	+	0	0	0	0	0
30	0	++	+++	0	+	+++	+++	0	0	0
45	0	+++	+++	0	0	+++	+++	0	0	0
60	0	+++	+++	0	0	+++	+++	0	0	0
75	0	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+
90	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
105	0	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Nach diesen Ergebnissen erschien es uns reizvoll, die Wirkung des Ergotamins zu untersuchen. Seine schmerzlindernde Wirkung bei Migräne ist bekannt und wird therapeutisch angewendet. Man trifft als Erklärung der Zusammenhänge häufig die Meinung, das Ergotamin als sympathicuslähmender Stoff löse die der Migräne zugrunde liegende Vasoconstriction. Die kleinen Dosen, die in der Therapie verwendet werden, wirken indessen selbst vasoconstrictorisch, möglicherweise adrenalinsensibilisierend, jedoch sicher nicht sympathicolytisch[18]. Die Untersuchung dieser Substanz am experimentell erzeugten Zahnschmerz des Hundes ergab eine deutliche Herabsetzung der Schmerzempfindlichkeit. Auf Abb. 11 ist diese deutliche, wenn auch rasch vorübergehende Wirkung zu sehen. Auf die Schmerzherabsetzung folgte eine kurzdauernde Erhöhung der Erregbarkeit. Der Effekt wurde durch intravenöse Zufuhr von $^1/_2$ mg bei einem 11 kg schweren Hund ausgelöst. Das war eine bereits recht große Dosis, wie man an der Erregung des Tieres deutlich sehen konnte. In manchen Versuchen kam es auch zu Erbrechen. Damit wird die Wirkung sehr komplex und unübersichtlich. Es verdient indessen hervorgehoben zu werden, daß sich in der Beeinflussung der Schmerzempfindlichkeit das Ergotamin ebenfalls wie ein Sympathicomimeticum verhielt. Im Haffner-Versuch wurde dagegen eine deutliche Wirkung des Ergotamins vermißt (Tabelle 6).

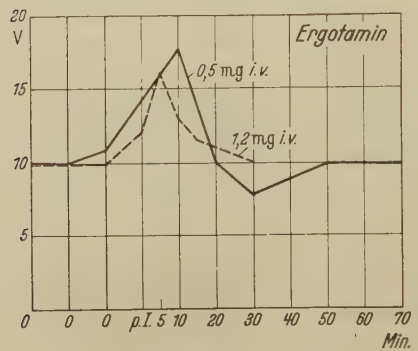


Abb. 11.

Tabelle 6. Ergotamin. 35 mg/kg.

Zeit Min.	Tier: I	II	III	IV	V	VI	VII
0	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
15	++	+	+++	+++	++	+	+++
30	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
45	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

In vielen von den geschilderten Experimenten trat eine mehr minder starke Erregung bei den Versuchstieren auf. Bei einem so hoch entwickelten Tier wie dem Hunde könnte sie sehr wohl zu einer Ablenkung der Aufmerksamkeit und dadurch bedingter Herabsetzung der Schmerzempfindlichkeit führen. Die Abstände der zur Herbeiführung der Testreaktion notwendigen Spannungen sprechen in den meisten Fällen dafür, daß es sich bei unseren Beobachtungen um eine echte Herabsetzung der Schmerz-

[18] Orzechowski u. Mitarb.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 253 (1940).

empfindlichkeit gehandelt hat. Auch die Versuche an der weißen Maus können in diesem Sinne gedeutet werden. Noch mehr aber erweisen dies Versuche mit zentral erregenden Substanzen. Wie aus Abb. 12 hervorgeht, wurde durch Pyramidon auch in Dosen, die eine sehr deutliche zentrale Erregung hervorriefen, die Schmerzempfindlichkeit der Hundezähne stets deutlich erhöht (vgl. Reichelt[19]).

Die im vorangegangenen geschilderten Versuche wurden durchgeführt, um eine experimentelle Grundlage für die Veränderlichkeit der Schmerzempfindlichkeit höherer Tiere zu erlangen. Sie sollten ferner unsere Hypothese stützen, daß die Schmerzempfindlichkeit in den Komplex der Notfallfunktionen des tierischen Körpers hineinreicht. Die finale Betrachtungs-

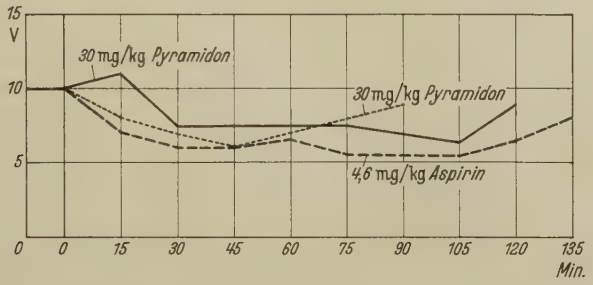


Abb. 12.

weise zeigt, daß im Notstand des Körpers die Herabsetzung der Schmerzempfindlichkeit eine treffliche Anpassung darstellt. Andererseits darf nicht übersehen werden, daß die Dosierung, die zur Sichtbarmachung der Effekte notwendig war, stets sehr groß war. Das ist bei der Anwendung körperfremder Stoffe und in Versuchen beim Tier zunächst nicht zu verwundern. Die hohen Dosen müssen nicht unverändert auf den Menschen übertragen werden. Gerade beim Schmerz wissen wir, daß der Mensch besonders empfindlich reagiert, daß also die erforderlichen Dosen auch im theoretischen Ansatz um Größenordnungen kleiner sein dürfen. Im wesentlichen aber kam es uns darauf an, auf ein bisher anscheinend unbekanntes Prinzip hinzuweisen, das uns vor allem für die Erkenntnis mancher Zusammenhänge wichtig erscheint. Bei der Diskussion prinzipieller Qualitäten kann die Erörterung der zu ihrem Nachweis zunächst erforderlichen Quantitäten zurückstehen.

Im Anschluß an jede Reizschwellenbestimmung wurde im Verlauf der Untersuchungen eine Chronaxiemessung durchgeführt. Sie ergaben keine deutlichen Veränderungen und schließen damit Veränderungen in der Zahnpulpa und in den afferenten Nerven aus. Die Wirkung der Sympathicomimetica ist daher als eine vorwiegend zentrale anzusehen. Dieser Befund gewinnt besonderes Interesse insofern, als hier durch zentral er-

[19] Unveröffentlichte Versuche.

regende Stoffe eine Dämpfung der Schmerzempfindlichkeit hervorgerufen wird. Das klingt jedoch nur paradox. Es sei nur an die erregende Komponente im Wirkungsbild des Morphins erinnert. Die analgetische Wirkung der Antipyretica beim Menschen ist ein weiteres Beispiel für eine Herabsetzung der Schmerzempfindlichkeit durch zentral erregende Stoffe. Das neuerdings als Analgeticum empfohlene „Dolantin“* hat ebenfalls erregende Wirkungskomponenten.

Die Versuche lassen sich noch in einer anderen Richtung auswerten. In den vorangegangenen Mitteilungen[20] ist die Auffassung vertreten worden, daß die sympathicolytische Wirkung des Ergotamins als eine logische Folge seiner sympathicomimetischen Wirkung aufgefaßt werden kann. Aus vielen hier nicht näher aufzuzählenden Einzelbefunden der Literatur kann der Schluß gezogen werden, daß Ergotamin ein Sympathicomimeticum ist. Eigene Untersuchungen haben zudem das schwerstwiegende Bedenken zerstreut: auch durch große und sehr große Dosen von unbestrittenen Sympathicomimeticis konnte eine Sympathicolysis erzeugt werden[20]. Andere Arbeiten brachten direkte Stützen der Auffassung[21]. Bei den vorliegenden Untersuchungen bildeten andersartige Erwägungen den Ausgangspunkt. Es hat sich indessen auch im Verlaufe dieser Arbeit gezeigt, daß sich das Ergotamin auch in der Beeinflussung der Schmerzempfindlichkeit unter die Sympathicomimetica reiht.

Zusammenfassung.

1. Beim experimentell erzeugten Zahnschmerz des Hundes wirkten Sympatol, Ephedrin, Benzedrin, Veritol, Pervitin, β-Tetrahydronaphthylamin und Ergotamin empfindlichkeitsmindernd.

2. Die Befunde konnten an der weißen Maus im Haffner-Versuch für die meisten Substanzen bestätigt werden.

3. Die Bedeutung der Befunde für das Verständnis der natürlichen Variabilität der Schmerzempfindlichkeit wird diskutiert.

4. Auch unter den in dieser Arbeit verfolgten Gesichtspunkten reihte sich das Ergotamin unter die Sympathicomimetica ein.

* Warenzeichen.

[20] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 237, 245 (1940). — [21] Ebenda **196**, 253, 473 (1940).

Aus der I. medizinischen Klinik der kgl. ung. Peter Pázmány-Universität in Budapest. (Vorstand: Prof. Dr. Franz Herzog.)

Diurese-Untersuchungen bei adrenalektomierten Ratten nach Wasseraufnahme.

Von

Dr. **A. Margitay-Becht** und Dr. **Gy. Petrányi.**

(Eingegangen am 18. Februar 1941.)

Nach Loeb soll die Exsikkose der Addisonkranken infolge des Na-Verlustes und Wasserverlustes durch die Nieren entstehen. Die Untersuchung des Wasser- und Na-Haushalts nach Adrenalektomie ergab jedoch je nach der Tierart verschiedene Ergebnisse, so daß es zweifelhaft erscheinen muß, ob die Annahme von Loeb allein zu einer allgemeingültigen Erklärung der Exsikkose geeignet ist. Die schwere Störung des Wasserhaushalts der Addisonkranken wird durch den Verlauf des Verdünnungsversuchs bewiesen. Der Addisonkranke scheidet das aufgenommene Wasser nur verspätet und unvollkommen aus (Rosenow). Mc Cance beobachtete, daß der Wasserverbrauch beim Menschen in der durch Na-Verlust erzeugten Exsikkose ebenso verlief wie bei den Addisonkranken. Dies beweist auch, daß wir die Ursache der Exsikkose der Addisonkranken mit Recht im Na- und Flüssigkeitsverlust suchen können. Britton und Silvett, Gaunt, Remington und Schweizer, Rigler, Swingle, Parkins, Taylor und Hays konnten eine ähnliche Störung der Wasserausscheidung nach Wasserbelastung bei adrenalektomierten Mäusen, Ratten und Hunden nachweisen.

Bei diesen Tieren entsteht auch die Wasservergiftung nach Wasserbelastung leichter. In erster Reihe muß die Ursache der schlechten Ausscheidung nicht in den Nieren gesucht werden, sondern es handelt sich um eine ausschließlich extrarenale Störung. Der Flüssigkeitsaustausch einerseits zwischen den Kapillaren und der extrazellulären Flüssigkeit, andererseits zwischen der extrazellulären und intrazellulären Flüssigkeit ist schwer gestört. Letzten Endes ist dies eine Folge der Nebenniereninsuffizienz, wir wissen jedoch nicht, ob sie nur infolge des Na-Verlustes und der dadurch entstandenen Störung des osmotischen Gleichgewichts der Gewebssäfte zustande kommt, oder aber mangels des lebenswichtigen Hormons der Rinde die Permeabilitätsverhältnisse der Zellwände sich in der Weise verändern, daß das aus der Blutbahn in die Gewebe strömende Wasser bei Nebenniereninsuffizienz dort gebunden bleibt, wie Swingle und Mitarbeiter annehmen.

Auf diese Frage suchten wir mit Hilfe unserer Versuche eine Antwort zu gewinnen. 130—240 g schweren männlichen Ratten wurden durch

einen Hautschnitt am Rücken beide Nebennieren gleichzeitig entfernt. Die Lebensdauer der Tiere nach der Operation zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1.

Lebensdauer nach der Operation	Zahl der Ratten	%
Innerhalb 3 Tagen verendet ..	5	7,4
4—16 Tage gelebt	53	77,9
16—40 Tage gelebt	6	8,8
Länger als 40 Tage gelebt	4	5,9

Wir untersuchten die Diurese der adrenalektomierten Tiere unter verschiedenen Bedingungen nach Belastung mit Wasser. Die Tiere erhielten Brunnenwasser in einer 5 % des Körpergewichts betragenden Menge durch die Magensonde. Die Diurese wurde zum Teil bei sehr NaCl-arm ernährten Tieren mit und ohne Rindenhormongaben, zum Teil bei solchen Tieren beobachtet, die zur Nahrung noch eine verschieden große NaCl-Zugabe erhielten. Ein Teil der letzteren erhielt außerdem auch noch Cortin-Einspritzungen. Die Diurese wurde auf zwei Arten gemessen. Einerseits beobachteten wir, in wie langer Zeit das Tier 50 % des aufgenommenen Wassers ausscheidet. Bei unseren normalen Kontrolltieren schwankte die Zeit der 50 %igen Ausscheidung zwischen 45 und 95 Minuten. Viel beständiger fanden wir die in 3 Stunden ausgeschiedene Harnmenge, die 80—105 % der aufgenommenen Wassermenge ausmachte. Im weiteren werden wir nur diese Werte angeben. — Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tabelle 2.

Versuch Nr.	Zahl der Tiere	Nahrung	Rindenhormon	3-stündige Harnmenge in % der aufgenommenen Flüssigkeit
1	16	NaCl-arm	—	12
2	6		—	2
3	6		2 · 1/2 ccm vor Wassergabe	28
4	6		3 · 1/2 ccm „ „	20
5	8	NaCl-arm + 20 ccm phys. NaCl-Lösung täglich	—	18
6	8		1 ccm 1 St. vor Wassergabe	20
7	8		2 ccm 1 St. „ „	35
8	8		2 ccm 1 St. „ „	50
9	8		3 ccm 1 St. „ „	50
10	8		4 ccm 1 St. „ „	50
11	6		5 Tage je 1 ccm vor Wassergabe	53
12	7	Täglich 5 g NaCl	—	12
13	6		10 Tage lang je 2 · 1/2 ccm	50

Die kochsalzarm ernährten adrenalektomierten Tiere haben 4 Tage nach der Operation in 3 Stunden nur 12 % des aufgenommenen Wassers entleert. 7 Tage nach der Operation bereits nur 2 % (Versuch 1 und 2).

Die 3stündige Diurese stieg auf 28 bzw. 20 % an, als wir vor dem Trinken auch Cortin gaben (Versuch 3 und 4). Als die Tiere neben der kochsalzarmen Nahrung physiologische Kochsalzlösung zu trinken bekamen, war die Diurese in 3 Stunden nur 18 % der Zufuhr, bekamen die Tiere jedoch 1 Stunde vor dem Trinken auch 2 ccm Cortin, so war die Diurese wesentlich besser, sie entleerten 35 –50 % der getrunkenen Flüssigkeit. Dieses Resultat wurde auch dann nicht besser, als wir statt 2 ccm Cortin 3 oder 4 ccm gaben. Ebenso konnte die Diurese auch dann nicht gebessert werden, als wir das Cortin tagelang regelmäßig gaben und nicht nur unmittelbar vor dem Tränken der Tiere. Bekamen die Tiere seit der Operation 5 g NaCl, so war die dreistündige Diurese nur 12 % der aufgenommenen Flüssigkeit, sie besserte sich indes auf 50 %, wenn sie außer den 5 g Kochsalz täglich auch zweimal $^1/_2$ ccm Cortin erhielten.

Diese Befunde zeigen, daß, wenn auch die adrenalektomierten Tiere mit reichlicher NaCl-Aufnahme länger am Leben gehalten werden können, als diejenigen, deren Nahrung nur wenig Kochsalz enthielt, die Diurese nach Wassertrinken ebenso schlecht geblieben ist. Cortin bessert die Diurese der kochsalzarm ernährten Ratten um ein weniges, eine deutliche Wirkung übt es jedoch nur dann aus, wenn die Tiere NaCl in größeren Mengen zu sich nehmen. Die Diurese konnte maximal auf 53 % gebessert werden, gleichgültig ob das Cortin regelmäßig, oder nur unmittelbar vor der Flüssigkeitsaufnahme gegeben wurde. Unsere Versuche zeigen auch, daß die Diurese nach Wassertrinken um so schlechter ist, je schwerer die Nebenniereninsuffizienz der Tiere. Jene beiden Tiere, die neben NaCl-armer Nahrung nach der Operation noch 40 Tage lebten — also keine Nebenniereninsuffizienz hatten —, entleerten 2 Wochen nach der Operation in 3 Stunden 60 % der aufgenommenen Flüssigkeit. Es kann also ein Zusammenhang zwischen dem Grad der Diurese und der Nebenniereninsuffizienz angenommen werden. Reichliche NaCl-Zufuhr und Rindenhormon bessern die Diurese gemeinschaftlich, normale Verhältnisse konnten aber auch so nicht erzielt werden.

Harrison und Darrow haben bei adrenalektomierten Ratten nachgewiesen, daß bei der Abnahme des Na-Gehalts der Extrazellulärflüssigkeit zur Erhaltung des osmotischen Gleigewichts Wasser in die Zellen einströmt. Wahrscheinlich wird bei den adrenalektomierten Tieren durch die Aufnahme größerer hypotonischer Flüssigkeitsmengen die extrazelluläre Flüssigkeit noch stärker verdünnt, noch stärker hypotonisch, dementsprechend nimmt die Strömung in die Zellen hinein zu, die Diurese wird schlechter und diese Tiere erleiden deshalb leichter eine Wasservergiftung. Diese Annahme wird auch durch unsere Versuche bestätigt, in welchen wir den Einfluß des NaCl und des Cortin auf die Diurese der adrenalektomierten Ratten untersuchten. Wäre nämlich die Hypothese von Swingle richtig, namentlich daß das Rindenhormon die Flüssigkeitsströmung zwischen Zellen und extrazellulärem Raum von der Na-Konzentration unabhängig

regulieren würde, so hätte sich in unseren Versuchen die Diurese auch dann bessern müssen, wenn die Tiere das Cortin neben NaCl-armer Nahrung erhalten hätten. In diesen Fällen war jedoch die Zunahme der Diurese unbedeutend im Vergleich zu jener Zunahme, die wir unter Cortinwirkung dann beobachteten, wenn genügend NaCl zur Verfügung stand, wenn die Na-Konzentration der extrazellulären Flüssigkeit zunahm und zur Wiederherstellung des osmotischen Gleichgewichts das in den Zellen gebundene Wasser in den extrazellulären Raum zurückströmte. Unsere Versuche sprechen also in dem Sinne, daß das Rindenhormon hauptsächlich durch die Veränderung der Na-Konzentration der extrazellulären Flüssigkeit auf den Flüssigkeitsaustausch zwischen Zellen und Extrazellulärraum einwirkt, die Permeabilität hingegen nicht wesentlich beeinflußt. Eine normale Diurese konnte selbst mit gleichzeitiger Verabreichung von NaCl und Cortin nicht erreicht werden, obwohl die Tiere mit dieser Behandlung lange am Leben gehalten werden können und scheinbar gesund sind. Es scheint diese Behandlung zur Erreichung eines ganz normalen Salz-Wasserhaushalts doch nicht zu genügen. Es bleibt eine latente Nebenniereninsuffizienz zurück, die mit der Diureseprobe gut nachgewiesen werden kann. Dies beweist zugleich — in Übereinstimmung mit den Beobachtungen anderer Untersucher —, daß bei der Ratte die Symptome der Nebenniereninsuffizienz und der Exsikkose nicht so parallel verlaufen wie z. B. beim Menschen oder beim Hund.

Aus der I. medizinischen Klinik der kgl. ung. Peter Pázmány-Universität in Budapest. (Vorstand: Prof. Dr. Franz Herzog.)

Messung der Wirksamkeit des Nebennierenrindenhormons.

Von

Dr. Gy. Petrányi.

(Eingegangen am 18. Februar 1941.)

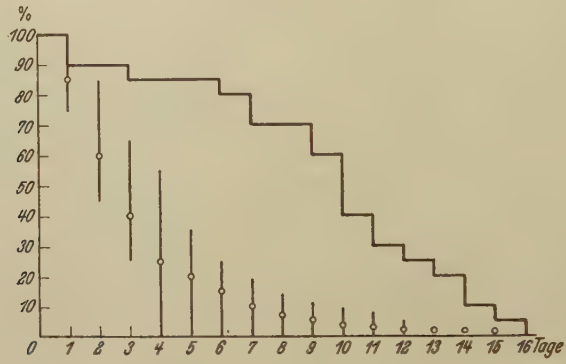
Das Körpergewicht der adrenalektomierten Tiere nimmt unmittelbar nach der Operation plötzlich stark ab. Die Hauptursache dieser Gewichtsabnahme ist der mit der großen Natriumausscheidung verbundene Wasserverlust. Der Wasserverlust führt zur Exsikkose, diese ist jedoch schwerer als aus dem Flüssigkeitsverlust folgen würde. Infolge des im Vergleich zum Flüssigkeitsverlust unverhältnismäßig großen Natriumverlustes wird die extrazelluläre Flüssigkeit den eine hohe und unveränderte Kaliumkonzentration aufweisenden Zellen gegenüber hypotonisch und in die Zellen einströmende Flüssigkeit [Harrison und Darrow (1)] erzeugt langsam einen der Wasservergiftung ähnlichen Zustand. Nach Swingle (2) soll diese Störung der Elektrolyten und die darauffolgende Störung des Wasserhaushalts den Tod der Tiere nach Adrenalektomie verursachen. Damit wäre auch zu erklären, daß nach Wasserbelastung die Diurese trotz der guten Wasserresorption abnimmt [Rigler (3)], richtiger verzögert ist und das eingeführte Wasser nur langsam und unvollkommen ausgeschieden wird. Die adrenalektomierten Mäuse und Ratten Riglers (4) sind auf Wasserbelastung verendet, mit entsprechenden Mengen von Rindenhormon konnten sie jedoch gerettet werden. Es nimmt auch die Wasserausscheidung der an experimentellem Diabetes insipidus leidenden Katzen nach Adrenalektomie beträchtlich ab [Ingram und Winter (5)]. Ich habe mit Margitay (6) mitgeteilt, daß zwischen herabgesetzter Diurese und Verschlechterung des Allgemeinzustandes bei adrenalektomierten Ratten ein enger Parallelismus besteht, ferner daß die schlechte Diurese besser wird, wenn wir mit der Wasserbelastung gleichzeitig und in einer Gabe ein wirksames Nebennierenrindenhormon verabreichen.

Aus dem Grad der 3stündigen Diurese nach Wasserzufuhr kann sozusagen zahlenmäßig auf die Lebensdauer der Ratte geschlossen werden.

Jene Ratten, die innerhalb 3 Stunden nach der Wassergabe keinen Harn ließen, gingen in kurzer Zeit ein, diejenigen, deren Diurese annähernd so groß war wie die der gesunden Kontrolltiere, überlebten die Adrenalektomie, lebten länger als 40 Tage nach der Adrenalektomie. Unter 198 operierten weißen Ratten fanden wir jedoch nur 14 solche, d. h. 7 %.

Letztere wurden von den Versuchen ausgeschaltet. In Tabelle 1 bedeutet der Ordinatenwert der Punkte die 3stündige Diurese in Prozentzahlen der eingeführten Wassermenge (Mittelwert einer aus 6 Ratten bestehenden Gruppe). Die zu den Punkten gehörenden Senkrechten zeigen die Streuung an. Die Diurese sämtlicher Ratten nahm bis zum 14. Tage auf 0 ab und am 16. Tage waren alle Ratten tot. Die gestufte Linie bedeutet die Zahl der am Leben befindlichen Ratten in Prozenten. Die Zahl der am Leben befindlichen Ratten nimmt mit derVerschlechterung der Diurese parallel ab.

Tabelle 1.



Die beiden Umstände, daß bei Ratten ein enger Zusammenhang zwischen der Schwere der Nebenniereninsuffizienz und der schlechten Diurese nach Wasserbelastung besteht, ferner, daß sich nach Verabreichung von Rindenhormon mit dem Allgemeinzustand zusammen auch die Diurese bessert, lassen den Wasserversuch zur Prüfung der Wirksamkeit des Rindenhormons geeignet erscheinen.

Die zur Zeit gebräuchlichsten Rindenhormon-Einheiten sind: 1. Die in täglich ein oder zwei Einspritzungen gegebene minimale Menge, die zur Erhaltung des guten Gesundheitszustandes (RN, Körpergewicht) von Hunden und Katzen 10 bzw. mehrere Tage nach der Operation notwendig ist [Harro-Pfiffner-Weinstein-Swingle (7)]. Ein die Wirksamkeit betreffend verläßliches Verfahren, dessen großer Nachteil jedoch die sehr lange Dauer (mindestens 20 bis 30 Tage) und die Schwerfälligkeit sind. Die Operation ist sehr schwierig, man braucht große Hormonmengen und gibt — wenn man die Untersuchung zur Vermeidung von größeren Fehlern an mehreren Tieren ausführt - viel Arbeit. 2. Einen guten Ruf genießt [Demour und Funk (8)] das von Grollmann und Firor (9), sowie Hartman und Thorn (10) empfohlene Rattenwachstum-Test. Das Verfahren ist leicht, hat aber den gleichen Fehler der langen Versuchsdauer (etwa 10 Tage). 3. Die Verwertung der Ergebnisse durch Muskelkraftbestimmung ist individuell und benötigt große Erfahrung. Die übrigen Methoden (Toxinempfindlichkeit usw.) sind unzuverlässig. Im Gegensatz zu diesen Verfahren nimmt der Wasserversuch nur 3 Stunden in Anspruch, er ist also rasch ausführbar, mit wenig Arbeit verbunden und liefert dennoch zahlenmäßig genaue Werte. Als Fehler der Verwendung von Ratten wurde entgegengehalten, daß die kleinen akzessorischen Nebennieren zurückbleiben können und deshalb nicht bei jeder Ratte eine Nebenniereninsuffizienz entsteht. Mit ent-

sprechender Operationstechnik kann dies gewöhnlich vermieden werden, so daß die Zahl dieser Fälle, wie wir gesehen haben, ziemlich klein ist (7%). Mit dem Wasserversuch können jedoch auch diese Fälle eliminiert werden, da wir gerade in der schlechten Diurese, die unter den gegebenen Versuchsbedingungen die Nebenniereninsuffizienz eindeutig beweist, eine genaue Kontrolle besitzen.

Die Bestimmung des Rindenhormons mit Hilfe des Wasserversuchs geschieht folgendermaßen: An etwa 150 g (120–200 g) schweren weißen Ratten wird die Adrenalektomie [Grollmann (11)] ausgeführt. Sehr wichtig ist die völlige Entfernung des umgebenden Fettgewebes. Die Operation ist sehr einfach, sie benötigt keine Sterilität und kann an den zur Bestimmung nötigen etwa 16 Ratten in 1 Stunde beendet werden. Am 5. Tag nach der Operation wird ein orientierender Wasserversuch ausgeführt, um uns über den Grad der Diurese bzw. der Insuffizienz zu überzeugen und die vom Durchschnitt beträchtlicher abweichenden Ratten aus dem Versuch auszuscheiden. Der Versuch selbst geschieht, indem wir in den nüchternen Magen durch die Sonde eine 5% des Körpergewichts ausmachende Trinkwassermenge einführen und die Ratten einzeln in Trichter unterbringen (bequemer, großer Glastrichter mit durchlöchertem Deckel, die Ratte sitzt auf einem im Trichter angebrachten Sieb). Die in 3 Stunden nach der Wassergabe ausgeschiedene Harnmenge wird in dem unter dem Trichter stehenden genauen Meßzylinder gesammelt und gemessen. Dieser orientierende Wasserversuch wird täglich wiederholt und wenn die 3stündige Diurese 25% der eingeführten Wassermenge nicht überschreitet, wird am darauffolgenden Tag die Bestimmung vorgenommen. Der Wasserversuch wird wiederholt, vor der Wassergabe wird jedoch das zu untersuchende Hormonpräparat in den hinteren Oberschenkel oder unter die Bauchhaut des Tieres gespritzt. Ein wirksames Rindenhormon bessert die Diurese. Da sich die Diurese jedoch nicht in geradem Verhältnis mit der gegebenen Hormonmenge bessert, eine Besserung auf 50% leicht erreicht werden kann, eine Steigerung darüber hinaus dagegen unverhältnismäßig große Hormonmengen beansprucht, muß jene kleinste Menge bestimmt werden, die auf 100 g Rattenkörpergewicht berechnet, die Diurese noch auf 50% steigert. Zum Vergleich verschiedener Hormonpräparate, d. h. als Einheit wird jene kleinste Menge festgestellt, die auf 100 g Rattenkörpergewicht berechnet, die Diurese auf 50% des in obiger Weise eingeführten Wassers steigert. Dazu waren von dem Cortin (Organon) 1 ccm nötig (= 1 Ratten-Diurese-Einheit). Die Streuung der gemessenen Werte ist um so kleiner, je mehr Ratten zu einem Versuch benutzt werden. Zu einem Versuch werden zweckmäßig 6–10 Ratten genommen. Das Versuchsergebnis wird im prozentuellen Verhältnis von eingeführtem und ausgeschiedenem Wasser bzw. Harn angegeben. In meinen acht voneinander unabhängig ausgeführten Versuchen fiel unter dem Einfluß von auf 100 g Rattengewicht berechneten 1 ccm Cortin die Diurese zwischen 44 und 55% als Grenzwerte. Die Ratten

erhielten eine gemischte Nahrung (100 g Milchgries mit 15 g Casein, 5 Tropfen Lebertran und 1 g NaCl vermischt, wenig grüne Blätter) und tranken Brunnenwasser. Nach der Bestimmung können wir den Zustand der Tiere bessern, wenn wir der Nahrung viel NaCl zufügen und physiologische Kochsalzlösung zu trinken geben. Die Tiere können dann nach 3–4 Tagen wieder zu einer Bestimmung benutzt werden.

Mit dem Wasserversuch gelang es mir auch, die Wirkungsdauer des Rindenhormons zu bestimmen. Wurde die Wasserbelastung nicht mit den Hormoninjektionen gleichzeitig, sondern später vorgenommen, so war die Wirkung schwächer und zwar um so schwächer, je länger die zwischen Hormoninjektion und Wasserbelastung verstrichene Zeit war. Nach der Hormoneinspritzung war die Diurese im Wasserversuch nach 1 Stunde 36 %, nach 2 Stunden 27 %, nach 3 Stunden nur mehr 16 % des eingeführten Wassers. Nach mehr als 3 Stunden war keine Wirkung mehr nachweisbar, die Diurese war ebenso groß, wie die der adrenalektomierten Tiere ohne Hormoneinspritzungen. Bei völligem Ausfall der Nebennierentätigkeit kann also die Wirkungsdauer des Nebennierenrindenhormons (Cortin) auf 3 bzw. mit dem 3stündigen Wasserversuch zusammen höchstens auf 6 Stunden gesetzt werden.

Mit dem Wasserversuch können wir die Wirksamkeit des Rindenhormons auch bei Anwendung wiederholter Gaben während einer längeren Zeit messen. Wir bestimmen jene Menge, die dreimal täglich verabreicht, die Diurese nach Wasserbelastung auf normaler Höhe (80–100 %) hält, d. h. die Nebenniereninsuffizienz ganz ausgleicht. Vom 5. Tag nach der Operation angefangen wird der orientierende Wasserversuch täglich ausgeführt und wenn die 3stündige Diurese unter 25 % gesunken ist, die Hormonbehandlung eingeleitet. Der Wasserversuch wird alle 4–8 Tage wiederholt und die Hormongabe solange erhöht oder vermindert, bis die Diurese normal wird. Auf diese Weise kann also auch die Wirkung der langsamer resorbierbaren öligen Präparate bestimmt und die parenterale und perorale Verabreichungsweise verglichen werden. Die perorale Wirksamkeit des Rindenhormons kann heute zwar nicht mehr angezweifelt werden, während jedoch Grollmann (12) die perorale Verabreichung für die wirksamere hält, behaupten Thorn (13) und Mitarbeiter, daß zur Erreichung der gleichen Wirkung peroral die dreifache Menge der parenteralen Gaben notwendig wäre. Tabelle 2 zeigt die vergleichenden Untersuchungen der peroralen und parenteralen Verabreichungsweise. Die Ratten erhielten eine ölige Lösung des synthetischen Desoxy-Corticosteron-Acetats (Doca sec. Organon) subcutan, bzw. in den Rachen getropft. Wie die Tabelle zeigt, wurde keine wesentliche Abweichung in der Wirkung der beiden Verabreichungsweisen gefunden.

Die von einzelnen Untersuchern mitgeteilten Abweichungen hängen wahrscheinlich mit der Zahl der täglichen Gaben zusammen. Im folgenden Versuch gab ich am 6., 7. und 8. Tag nach dem orientierenden Wasser-

Tabelle 2.

Zahl der Tage nach Adrenalektomie	Intramuskuläre Gaben			Perorale Gaben		
	Zahl der Tiere	Doca mg	Diurese %	Zahl der Tiere	Doca mg	Diurese %
5	12	—	16	12	—	20
5—9		1 · 0,5			1 · 0,5	
9	10		23	10		25
9—13		2 · 0,5			2 · 0,5	
13	8		38	9		40
13—17		2 · 2			2 · 2	
17	7		58	8		54
17—22		3 · 3			3 · 3	
22	7		80	7		73

versuch auf 100 g Rattengewicht berechnet 1,5 ccm Cortin subcutan. Die I. Gruppe erhielt diese Menge (1 × 1,5 ccm) einmal täglich, die II. Gruppe die gleiche Menge, aber auf drei Gaben verteilt (3 × 0,5 ccm). Am 9. Tag war die Diurese der I. Gruppe 36%, die der II. Gruppe 58%. Am vollkommensten und den physiologischen Verhältnissen am besten entsprechend wäre wahrscheinlich, wenn der Organismus das Hormon ständig erhalten würde, z. B. per os in Form von langsam löslichen Tabletten, aus einem intramuskulären Depot, oder wie Thorn-Engel-Eisenberg in Hundeversuchen mit Erfolg versucht haben: unter die Haut implantiertes kristallinisches Desoxy-Corticosteron.

Außer dem lebenswichtigen Interesse der Addisonkranken rechtfertigt auch der außerordentlich hohe Preis der Rindenhormonpräparate die Überprüfung ihrer Wirksamkeit. Jene Hormonpräparate, die im Ratten-Diureseversuch keine entsprechende Wirkung zeigten, bewährten sich auch bei Katzen nicht und waren auch bei Addisonkranken von verhältnismäßig schwacher Wirkung. Die perorale Behandlung ist in der Addisonkrise natürlich unbrauchbar, bei der Behandlung von leichteren chronischen Fällen scheint sie jedoch gut zu sein und kann in allen Fällen empfohlen werden, die eine Rindenhormonbehandlung beanspruchen.

Zusammenfassung.

1. Die Wirksamkeit des Nebennierenrindenhormons kann mit dem Wasserversuch gut gemessen werden. Als Einheit wird jene Menge empfohlen, die mit der Wasserbelastung gleichzeitig eingespritzt die Diurese auf 50% der eingeführten Wassermenge erhöht. 2. Ein großer Vorteil der mit dem Wasserversuch ausgeführten Rindenhormonbestimmung ist die Einfachheit und Ausführbarkeit in 3 Stunden. Wässerige Präparate können mit diesem Verfahren am raschesten und mit zahlenmäßiger Genauigkeit bestimmt werden. 3. Die Wirkungsdauer des Rindenhormons ist höchstens 3 6 Stunden. 4. Der Wasserversuch ist auch zur Bestimmung des Rindenhormons mit längere Zeit dauernder Verabreichung geeignet.

Hier kann jene Menge als Einheit empfohlen werden, die in drei Tagesdosen die Diurese auf 80 -100% der normalen erhöht und auf dieser Höhe hält. 4. Es wurde bei Ratten kein Unterschied zwischen der Wirkung der intramuskulären und peroralen Verabreichungsweise des Desoxy-Corticosterons gefunden.

Literatur.

1) Harrison u. Darrow: J. clin. Invest. (Am.) **17**, 77 (1938). — 2) Swingle Zit. Kongr.zbl. inn. Med. **99**, 667 (1939). — 3) Rigler: Med. u. Chem. Bayer III, 220 (1936). — 4) Rigler: Münch. med. Wschr. **1939**, S. 444. — 5) Ingram u. Winter: Amer. J. Physiol. **122**, 43 (1938). — 6) Margitay u. Petrányi: M. Orv. Arch. (ung.) **1939**. — 7) Harrop-Pfiffner-Weinstein-Swingle: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **29**, 449 (1932). — 8) Damour u. Funk: J. Pharmacol. (Am.) **62**, 307 (1938). — 9) Grollman u. Firor: Biol. Chem. (Am.) **100**, 429 (1933). — 10) Hartman u. Thorn: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **28**, 94 (1931). — 11) Grollman: The Adrenals. Baillier-Tindall & Cox. **1936**, S. 252. — 12) Grollmann: Ebenda, S. 262. — 13) Thorn usw.: Endocronology **23**, 403 (1938). — 14) Thorn-Engel-Eisenberg: Amer. J. med. Sc. **197**, 722 (1939).

Aus dem physiologischen Laboratorium der I. G.-Farbenindustrie A. G., Werk Elberfeld.

Die Uteruswachstumswirkung der Follikelhormone und der östrogenen Stilbene.

Von

Ernst Huf.

Mit 4 Textabbildungen (5 Einzelbildern).

(Eingegangen am 6. März 1941.)

Unter den Versuchen zur Herstellung künstlicher Stoffe mit den Eigenschaften des Follikelhormons waren bekanntlich diejenigen, die zu den Stilbenderivaten führten, am erfolgreichsten. Die beiden wichtigsten Körper aus dieser Stoffklasse sind das 4,4′-Dioxy-α, β-Diäthylstilben (fernerhin hier als Stilben A bezeichnet) und das 4,4′-Dioxy-α, β-Diäthylstilben-Dipropionat (fernerhin als Stilben B bezeichnet). Von beiden Stoffen genügen Bruchteile von einem Gamma, um bei infantilen oder kastrierten Nagetieren die bekannte Reaktion der Verhornung des Vaginalepithels auszulösen. Dabei besitzt das Stilben B gegenüber dem Stilben A die Eigenschaft, einen wesentlich länger dauernden Östrus hervorzurufen. Es zeigte sich auch bald, daß die östrogenen Stilbene eine Reihe weiterer biologischer Wirkungen besaßen, die bis dahin nur den Follikelhormonen zukamen. Über den derzeitigen Stand dieser biologischen Versuche haben wir an anderer Stelle berichtet (6).

Recht genau ist die Wirkung der synthetischen Brunststoffe auf den Uterus untersucht worden. Ein schon makroskopisch erkennbarer Effekt zeigt sich in der Anregung des Wachstums. Auch eine Hyperämie ist schon ohne weitere Hilfsmittel feststellbar. Die histologische Untersuchung ergibt dann, daß die Schleimhaut genau so wie unter der Wirkung des Follikelhormons proliferiert. Auch die Überführung der mit Cyren vorbehandelten Schleimhaut in die Sekretionsphase mit Corpus-luteumhormon gelingt ohne weiteres. Diese Versuche sind tierexperimentell gut belegt, jedenfalls was die rein qualitativen Reaktionen anlangt.

Anders verhält es sich mit der quantitativen Seite des Problems. Obwohl die Ermittlung des Uteruswachstums (-gewichts) in Abhängigkeit von der zugeführten Wirkstoffdosis eine an und für sich längst bekannte Möglichkeit zur Beurteilung der Wirkungsstärke eines Brunststoffes, wie z. B. des Östradiolbenzoats darstellt, haben doch nur wenige Autoren die genannten Stilbene in dieser Weise untersucht. Dies ist verständlich, wenn man in Betracht zieht, daß die Wirkungsstärke von natürlichen Follikelhormonpräparaten durch die Schaffung international anerkannter

Abmachungen unter Zugrundelegung der Östrus-, nicht der Uteruswachstumsreaktion ermittelt wird. So hat man der Tradition folgend vor allem immer wieder vergleichende Messungen der östrogenen Wirksamkeit von natürlichem und künstlichem Brunststoff vorgenommen. Da die Ergebnisse solcher Messungen aber doch nicht allgemein in internationalen Einheiten ausdrückbar waren, da es internationale Einheiten nur für die natürlichen Brunststoffe gibt, so hatte man also ganz freie Wahl, welche biologische Reaktion man vergleichenden quantitativen Untersuchungen zugrunde legte. Uns schien es hier aber viel angebrachter zu sein, an Stelle der Östrusreaktion, die im wesentlichen doch nur Laboratoriumsinteresse besitzt, die Uteruswachstumsreaktion am Tier treten zu lassen. Diese vor allem dürfte doch den Arzt interessieren, weil die „östrogenen Wirkstoffe" beim Menschen gerade als uteruswirksame Körper eingesetzt werden. Es schien uns mit anderen Worten eine Aussage wie die, daß man von Stilben B 2—3mal soviel wie von Östradiolbenzoat benötigt, um bei einem gewissen Prozentsatz von kastrierten Ratten oder Mäusen Verhornung des Vaginalepithels zu erzeugen, von viel geringerer praktischer Bedeutung zu sein als die Feststellung, daß andererseits Stilben B im Vergleich zu Östradiolbenzoat bei infantilen oder kastrierten Ratten mindestens doppelt so stark uteruswirksam ist, gemessen an der Vergrößerung des Organs.

Wie gesagt, gibt es nur wenige Arbeiten, in denen die Uteruswachstumswirkung der Follikelhormone und der Stilbene quantitativ vergleichend dargestellt wird.

Campbell, Dodds, Lawson und Noble (2) behandelten je 5 infantile, 40–45 g schwere Rattenweibchen mit 0,05 bzw. 0.1 bzw. 0,5 γ Stilben A, gelöst in verdünntem Alkohol. Diese Dosen wurden über 3 Tage verteilt in 6 Portionen subcutan gespritzt. 5 Tage nach Beginn der Injektion betrugen die Gewichte der (fixierten) Uteri: 41,3 bzw. 68,8 bzw. 147,6 mg. — Mit infantilen Ratten hat auch Grab (5) gearbeitet. Er verglich dabei die Uteruswirkung von Stilben A mit der von Östron bzw. Östradiol und vor allem die Wirkung von Stilben B mit der des Östradiolbenzoats. Das Stilben A hatte stets eine stärkere Uteruswirkung als entsprechende Dosen von Östron oder Östradiol. Ebenso zeigte sich das Stilben B dem Östradiolbenzoat um ein Vielfaches überlegen. Aus dem Diagramm 3 der betreffenden Arbeit läßt sich z. B. entnehmen, daß zur Erzielung eines Uterusgewichtes von 60 mg (dies dürfte etwa das Doppelte des Uterusgewichtes eines unbehandelten Kontrolltieres sein) von Östradiolbenzoat etwa das 3–4fache der Stilben B-Dosis erforderlich war. — Vergleichende Versuche mit Östron und Stilben A hat auch van Eekelen (4) durchgeführt. In einer Diskussionsbemerkung zu einem Vortrag von Dingemanse (3) führte van Eekelen aus, daß nach der Methode von Bülbring und Burn gemessen, das Stilben A sich etwa 10mal so wirksam wie Östron erwiese. Diese Angabe bezieht sich ebenfalls auf Ratten. — Weniger

gute Erfahrungen mit Ratten hatten Kreitmair und Sieckmann (7), die vor allem die Ansammlung von sehr wechselnden Mengen seröser Flüssigkeit im Uterus auf die Behandlung mit Brunststoffe hin als störend schildern. Diese Autoren haben daher Messungen an infantilen Kaninchen vorgenommen und gelangten u. a. zu dem Schluß, daß die Uteruswachstumswirkung von Stilben A und Stilben B annähernd gleich sei; beide seien aber etwa 5mal so wirksam wie Östron. Die Überlegenheit gegenüber dem Östron steht sicher ganz außer Frage. Was die Verhältnisse beim Stilben A und B betrifft, so finden wir aber doch, daß die Uteruswirksamkeit des Stilbens B stärker als die des Stilbens A gefunden wurde. So waren zur Gewichtszunahme um das 5,2fache 2,5 γ/Tier Stilben A erforderlich. Ein Anstieg um das 4,6fache konnte aber schon mit 1 γ Stilben B erzielt werden. Bei den höheren Vielfachen des Uterusgewichtes trat der Unterschied noch deutlicher hervor. 10 γ Stilben A vergrößerten den Uterus auf das 8,3fache, 2,5 γ Stilben B aber auf das 9,4fache und 5 γ sogar auf das 12,2fache. —

Diese wenigen Angaben wollen wir durch die Schilderung einiger neuer, an Ratten gewonnener Ergebnisse aus unserem Laboratorium erweitern. Bei diesen Versuchen wurden als Stilben A und Stilben B die Handelspräparate Cyren A und Cyren B* verwendet.

A. Die Uteruswirksamkeit von Stilben A und Östron.

1. Versuche mit infantilen Ratten**.

a) Zuführung der Gesamtdosis mit einer Injektion. Die Messungen wurden im April 1940 vorgenommen. Infantile Ratten im Gewicht von 30—40 g erhielten subcutan auf einmal die gewünschte Stilben A- bzw. Östrondosis in 0,6 ccm Sesamöl gelöst. Pro Dosis wurden 5 Tiere eingesetzt. Die Tötung aller Tiere erfolgte am 5. Versuchstag, den Injektionstag als ersten Tag gerechnet. 5 Kontrolltiere erhielten je 0,6 ccm Sesamöl ohne Brunststoff. Die gleichmäßige und saubere Herausnahme des Uterus, der bis zur Freilegung der Muskelschläuche von allen aufliegenden Gewebsschichten befreit wurde, geschah mit besonderer Sorgfalt. Auch wir haben oft mehr oder weniger viel freie Flüssigkeit in den Uterushörnern angesammelt gefunden; sie ist vor der Wägung des Uterus immer entfernt worden. Dies gelang leicht durch Ausdrücken des Organs zwischen Filtrierpapier. Zur Unterstützung dieser Maßnahme wurden in die Muskulatur einige kleine quere Einschnitte gemacht. Zur Wägung bedienten wir uns der Torsionswaage.

b) Zufuhr der Gesamtdosis in 6facher Unterteilung. Diese Messungen fanden im März/April 1940 statt. Es wurde im einzelnen genau so gearbeitet wie unter a) beschrieben. Anstatt 1 × 0,6 wurden 6 × 0,1 ccm innerhalb von 2 Tagen bei möglichst gleichen Zeitabständen gegeben. Pro Dosis kamen 5 Tiere zur Anwendung. 13 Kontrolltiere erhielten 6 × 0,1 ccm Öl ohne Brunststoff. Die Tötung der Tiere und die Präparation der Uteri erfolgte hier am 6. Versuchstag.

---

* Herstellerfirma: „Bayer" I. G. Farbenindustrie A.-G. Leverkusen.
** Alle von uns verwendeten Ratten entstammen einer eigenen Zucht.

2. Versuche mit kastrierten Ratten.

Im Juli 1940 wurden innerhalb von 10 Tagen Rattenweibchen im Gewicht von 23—76 g kastriert und dann unmittelbar anschließend 3—4 Wochen lang täglich einmal abgestrichen. Nur Tiere, die immer einen negativen Vaginalabstrich zeigten, wurden für die Auswertungen im August verwendet. Zur Zeit des Versuchsbeginns lagen die Körpergewichte der Versuchstiere zwischen 62 und 168 g. Wegen der relativ großen Gewichtsspanne wurde auf eine gleichmäßige Verteilung der leichten und schweren Tiere auf die verschiedenen Dosen besonders geachtet. Je 10 Tiere erhielten dieselbe Wirkstoffdosis. Das weitere Vorgehen ist mit dem bei 1b beschriebenen identisch.

Die Meßergebnisse der Versuche 1a, 1b und 2 sind in der Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1. Uteruswirkung von Stilben A und Östron. Beziehung zwischen Dosis (γ) und Uterusgewicht (mg).

Versuch 1a				Versuch 1b				Versuch 2			
Stilben *A*		Östron		Stilben *A*		Östron		Stilben *A*		Östron	
γ	mg	γ	mg	γ	mg	γ	mg	γ	mg	γ	mg
0,02	25,2	0,1	25,2	0,01	27,6	0,05	22,4	0,01	25,4	0,04	25,4
0,08	31,2	0,4	21,8	0,02	30,8	0,10	28,7	0,04	25,0	0,16	27,7
0,32	41,7	1,6	26,8	0,04	31,8	0,20	26,4	0,16	40,2	0,64	34,4
1,28	36,8	6,4	26,8	0,08	41,2	0,40	29,4	0,64	61,4	2,56	48,1
5,12	48,2			0,10	50,6	0,50	34,4	2,56	65,4		
				0,16	41,0	0,80	29,8				
				0,32	39,4	1,60	40,5				
				0,50	43,6	2,50	44,6				
				2,50	50,4						
Ölkontrollen											
25,4 mg				23,0 mg				28,0 mg			

An Hand dieser Zahlen wurden die entsprechenden Abbildungen 1a, 1b und 2 angefertigt. Bei 1a wurden die Wirksamkeitsgeraden nach bestem Augenmaß gezogen. Die bei 1b und 2 eingezeichneten Geraden sind nach der allgemeinen Gleichung der Regressionslinie [s. Burn (1)]:

$$y = \bar{y} + b\,(x - \bar{x})$$

berechnet worden. Darin bedeuten $\bar{y}$ und $\bar{x}$ die Mittelwerte von y und x. In unserem Falle ist y das gemessene Uterusgewicht und x der Logarithmus der angewandten Wirkstoffdosis (D). Ferner ist

$$b = \frac{\Sigma\, y\,(x - \bar{x})}{\Sigma\,(x - \bar{x})^2}.$$

Alle Zwischenrechnungen lassen wir hier weg. Zur Orientierung sollen aber die einzelnen Rechengrößen angeführt werden. Es gilt für:

1b. Stilben A: $\bar{x} = -0{,}93$; $\bar{y} = +39{,}7$; $\Sigma (x - \bar{x})^2 = +4{,}37$; $\Sigma y (x - \bar{x}) = +42{,}7$; $b = +9{,}8$. — Östron: $\bar{x} = -0{,}40$; $\bar{y} = +32{,}1$; $\Sigma (x - \bar{x})^2 = +2{,}36$; $\Sigma y (x - \bar{x}) = +27{,}2$; $b = +11{,}5$.

2. Stilben A: $\bar{x} = -0{,}796$; $\bar{y} = +43{,}5$; $\Sigma (x - \bar{x})^2 = +3{,}63$; $\Sigma y (x - \bar{x}) = +70{,}0$; $b = +19{,}3$. — Östron: $\bar{x} = -0{,}495$; $y = +33{,}9$; $\Sigma (x - \bar{x})^2 = +1{,}82$; $\Sigma y (x - \bar{x}) = +22{,}7$; $b = +12{,}4$.

Daraus haben sich die folgenden Gleichungen für die Regressionslinien ergeben:

(1) $y = 9{,}8\,x + 48{,}8$ (Stilben A im Versuch 1b)
(2) $y = 11{,}5\,x + 36{,}7$ (Östron im Versuch 1b),
(3) $y = 19{,}3\,x + 58{,}9$ (Stilben A im Versuch 2),
(4) $y = 12{,}5\,x + 40{,}1$ (Östron im Versuch 2).

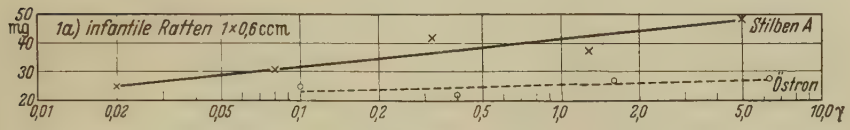


Abb. 1a.

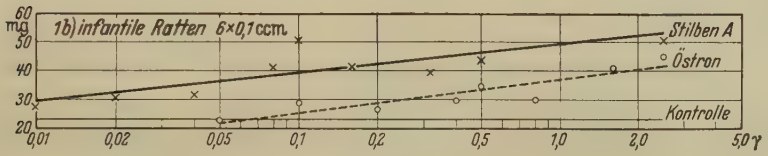


Abb. 1b.

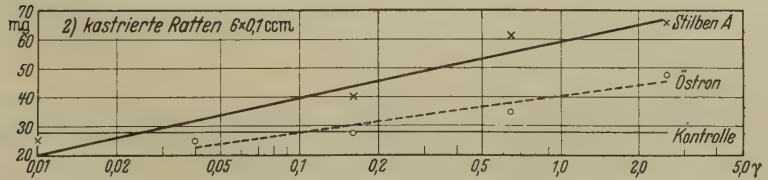


Abb. 2.

Aus den Diagrammen läßt sich ohne weiteres entnehmen, daß Stilben A eine wesentlich bessere Uteruswachstumswirkung als das Östron besitzt. Die Frage, um das wievielfache das Stilben A überlegen ist, wollen wir im Falle 1a nicht weiter diskutieren, da innerhalb des untersuchten Dosenbereiches beim Östron gegenüber den Kontrollen praktisch überhaupt keine Uteruswachstumswirkung gesehen wurde.

Nach den Versuchen 1b und 2 lassen sich aber quantitative Angaben über relative Wirksamkeit von Stilben A und Östron machen. Hierzu ist

es erforderlich, von einem bestimmten Uterusgewicht auszugehen. An sich steht es frei, welches Gewicht man hier festlegt. Um aber noch mit Größen zu rechnen, die innerhalb des von uns gemessenen Bereiches fallen, wollen wir das Uterusgewicht von 40 mg zugrunde legen und diesen Wert für y in den oben genannten Gleichungen 1—4 einsetzen. Es ergibt sich dann das Dosenverhältnis von Östron: Stilben A, und zwar ist bei Versuch 1b

$$\frac{D_{\text{Östron}}}{D_{\text{Stilben } A}} = \frac{1{,}94}{0{,}127} = 15{,}3.$$

Für Versuch 2 gilt:

$$\frac{D_{\text{Östron}}}{D_{\text{Stilben } A}} = \frac{0{,}382}{0{,}105} = 7{,}9.$$

Bei den Messungen mit infantilen Ratten hat sich mit anderen Worten eine etwa 15fache Überlegenheit des Stilbens A gegenüber dem Östron ergeben, während die Auswertungen mit Hilfe von kastrierten Tieren eine etwa 8mal so starke Uteruswirksamkeit des Stilbens A anzeigen. Diese Resultate lassen sich auch direkt aus den betreffenden Diagrammen ablesen. Unsere Beobachtungen decken sich also mit denen anderer Autoren (besonders mit denen von van Eekelen), die die vielfach höhere Uteruswirksamkeit des Stilbens A gegenüber dem Östron schon hervorgehoben haben.

B. Die Uteruswachstumswirkung von Stilben A und B.

Diese Versuche wurden mit infantilen Ratten im Gewicht von 30—39 g durchgeführt, die innerhalb von 2 Tagen die Stilbendosis mit $6 \times 0{,}1$ ccm Sesamöl subcutan zugeführt bekamen.

Beim Versuch 3a vom Oktober 1939 erhielten die Tiere Stilben A bzw. B und wurden am 22. Tag nach Beginn der Injektion getötet. Bei der Festlegung dieses Termins war der Vaginalabstrich bei den mit der höchsten Stilben B-Dosis behandelten Ratten ausschlaggebend, der am 22. Tage gerade negativ geworden war. Pro Dosis wurden 3 Tiere eingesetzt.

3b stellt einen weiteren, im Juli 1939 durchgeführten Versuch mit Stilben B dar. Das Ende des Versuchs lag hier jedoch am 12.Tage nach Beginn der Injektion. Zu dieser Zeit zeigten die mit 3,2 und 1,6 γ sowie auch ein Teil der mit 0,8 γ behandelten Tiere noch Vollöstrus. Jede Dosis wurde an 5 Tieren geprüft.

Im Versuch 3c vom Juli 1939 wurde die Wirkung von Stilben A und B in hohen Dosen geprüft. Je 3 Tiere erhielten dieselbe Dosis. Beim Stilben A wurden die Tiere jeweils dann getötet, wenn die Abstriche gerade wieder negativ geworden waren. Das war bei den beiden niedrigsten der gewählten Dosen am 7. Tage, bei den beiden mittleren Dosen am 12. Tage und bei der höchsten Dosis etwa am 15. Tage nach Beginn der Injektion der Fall. Die mit der niedrigsten Stilben B-Dosis behandelten Ratten wurden am 8. alle übrigen Tiere, am 15. und 16. Versuchstage, zur Zeit als noch Vollöstrus herrschte, getötet.

Die Ergebnisse von Versuch 3a und b haben wir in Abbildung 3 (nach bestem Augenmaß gezeichnete Wirksamkeitsgeraden), die von Versuch 3c in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Mit diesen Versuchen sollte vor allem nochmals demonstriert werden, daß das Stilben B dem Stilben A an Uteruswachstumswirkung stark überlegen ist. Es ergibt sich das schon aus Versuch 3a, der am 22. Versuchstag nach Beginn der Injektionen beendet wurde. Zu diesem Zeitpunkt waren die

Tabelle 2. Uteruswirksamkeit von Stilben A und B.

Dosis	Uterusgewicht mg	
γ	Stilben *A*	Stilben *B*
0,25	41,6	54,0
2,5	49,3	93,0
25,0	50,7	136,0
250,0	68,0	186,0
2500,0	130,0	178,0

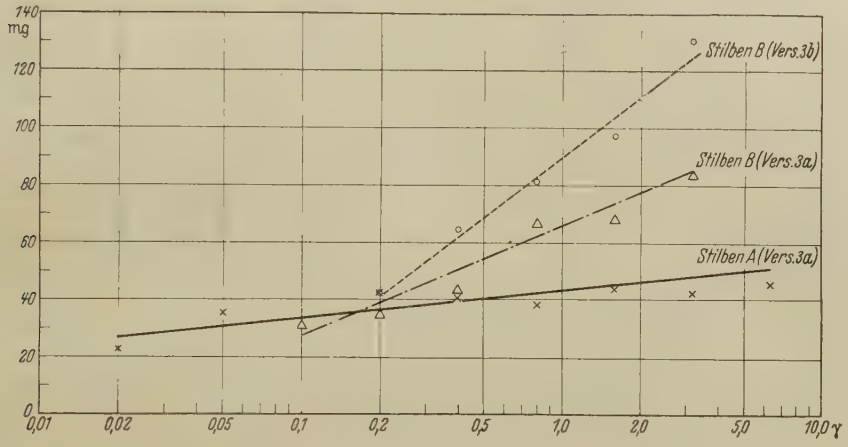


Abb. 3.

Vaginalabstriche der Stilben A-Tiere schon längst wieder negativ. Es fragt sich nun, wie die Ergebnisse ausgefallen wären, wenn hier die Ermittlung des Uterusgewichtes zu einem früheren Zeitpunkt stattgefunden hätte. Hier zeigt aber Tabelle 2, daß z. B. selbst nach Verabreichung von 25 γ Stilben A und Tötung der Tiere sofort nach Verschwinden des Östrus kaum ein höheres Uterusgewicht erzielt werden konnte als im Versuch 3a nach Gabe von 6,4 γ Stilben A und Bestimmung des Uterusgewichtes mehrere Tage nach Verschwinden des Östrus. Wenn also der Zeitpunkt der Untersuchung beim Stilben A überhaupt eine Rolle spielt, so kann er sicher nicht von wesentlicher Bedeutung sein. Dagegen scheint es bei Stilben B wichtig zu sein, ob man das Uterusgewicht zur Zeit des Vollöstrus oder später ermittelt. So fanden wir (s. Diagramm 3) zur Zeit des Vollöstrus (am 12. Versuchstag) viel höhere Uterusgewichte als zur Zeit des Wiedereintritts des Metöstrus (am 22. Versuchstag). Größere Erfahrungen besitzen wir hierüber allerdings nicht. Einerlei aber, ob wir zur Zeit des Vollöstrus oder am Ende desselben gemessen haben, immer hat sich die weit bessere Uteruswirksamkeit des Stilbens B gegenüber dem Stilben A ergeben. Zur Erzielung eines bestimmten Uterusgewichtes wurden immer viel höhere Dosen von Stilben A als von Stilben B benötigt.

Dies zeigt auch Tabelle 2, aus der sich z. B. entnehmen läßt, daß man zur Erzielung eines Uterusgewichtes von 136 mg 25 γ Stilben B brauchte. Demgegenüber gelang es erst mit 2500 γ Stilben A das Uterusgewicht auf 130 mg heraufzutreiben.

C. Die Uteruswachstumswirkung von Stilben B und Östradiolbenzoat.

Wir haben diese Frage neuerdings in zwei Parallelversuchen (4a und b) geprüft: Für die Messungen kamen Ratten zur Anwendung, die $1^1/_2-2$ Monate vorher kastriert und durch Kontrolle des Vaginalabstrichs als cyclusfrei erkannt worden waren. Versuch 4a fand im September 1940, Versuch 4b im Januar 1941 statt. Am Einsatztag betrugen die extremsten Körpergewichte bei Versuch 4a 70—146 g, bei Versuch 4b 96—177 g. Die Verteilung der leichteren und schwereren Tiere auf die verschiedenen Dosen beider Präparate war eine möglichst gleichmäßige. Bei 4a wurden 7, bei 4b 8 Tiere pro Dosis eingesetzt. Gleichzeitig mit 4a liefen 6 Kontrolltiere, die nur Öl erhielten, mit. Die zu verabreichende Wirkstoffdosis wurde in 6facher Unterteilung in einem Gesamtvolumen von 1,2 ccm (6 × 0,2 ccm) Sesamöl gelöst subcutan innerhalb von 2 Tagen gespritzt. Die Tötung der Tiere erfolgte bei 4a am 10., bei 4b am 13. Versuchstag, den Beginn der Injektion als 1. Tag gerechnet. Diesem Zeitpunkt entsprach bei den meisten Tieren gerade das Ende des Vollöstrus. Ein Teil der Tiere wies aber auch dann noch einen rein positiven Vaginalabstrich auf. Dies galt für die Östradiolbenzoattiere ebenso wie für die Cyren B-Tiere. Als Östradiolbenzoat verwendeten wir ein Präparat von F. P. 194°. Der F. P. des Cyren B lag bei 105°. Um die Möglichkeit eines Wäge- oder Verdünnungsfehlers auszuschalten, wurden für Versuch 4b neue Einwaagen von beiden Wirkstoffen und neue Verdünnungen vorgenommen.

Die Ergebnisse der vergleichenden Messungen mit Stilben B und Östradiolbenzoat sind in Tabelle 3 angegeben. Der Ölkontrollversuch ergab ein mittleres Uterusgewicht von 36 mg.

Tabelle 3. Uteruswachstumswirkung von Stilben B und Östradiolbenzoat.

Dosis γ	Stilben *B*		Östradiolbenzoat	
	Uterusgewicht in mg pro Tier			
	Versuch 4a	Versuch 4b	Versuch 4a	Versuch 4b
0,2	40,5	32,7	43,1	46,9
0,4	56,0	45,7	49,3	51,8
0,8	55,1	62,5	76,0	47,4
1,6	86,0	82,2	65,6	56,9
3,2	102,5	101,2	68,0	57,1
6,4	144,8	124,5	71,5	67,8

Aus der Tabelle kann man die Überlegenheit des Stilbens B hinsichtlich der Uteruswachstumswirkung ohne weiteres ablesen. Um hier exaktere Angaben machen zu können, sind an Hand der Tabelle 3 zunächst wieder die Gleichungen der Regressionslinien berechnet worden. Die wichtigsten Rechengrößen sind:

Bei Versuch 4a für Stilben B: $\bar{x} = +0{,}054$; $\bar{y} = +80{,}7$; $\Sigma (x - \bar{x})^2 = +1{,}66$; $\Sigma y (x - \bar{x}) = +156{,}0$; $b = +94{,}0$. — Für Östradiolbenzoat: $\bar{x} = 0{,}054$; $\bar{y} = 62{,}3$; $\Sigma (x - \bar{x})^2 = +1{,}66$; $\Sigma y (x = \bar{x}) = +68{,}4$; $b = +41{,}2$.

Bei Versuch 4b für Stilben B: $\bar{x} = +0{,}054$; $\bar{y} = +74{,}8$; $\Sigma (x - \bar{x})^2 = +1{,}66$; $\Sigma y (x - \bar{x}) = +145{,}2$; $b = +87{,}6$. — Für Östradiolbenzoat: $\bar{x} = 0{,}054$; $y = +54{,}7$; $\Sigma (x - \bar{x})^2 = +1{,}66$; $\Sigma y (x - \bar{x}) = +54{,}8$; $b = +33{,}1$.

Daraus ergeben sich folgende 4 Gleichungen für die Regressionslinien:

(5) $y = 94{,}0\, x + 75{,}8$ (Stilben B im Versuch 4a),

(6) $y = 41{,}2\, x + 60{,}1$ (Östradiolbenzoat im Versuch 4a),

(7) $y = 87{,}6\, x + 70{,}1$ (Stilben B im Versuch 4b),

(8) $y = 33{,}1\, x + 52{,}9$ (Östradiolbenzoat im Versuch 4b).

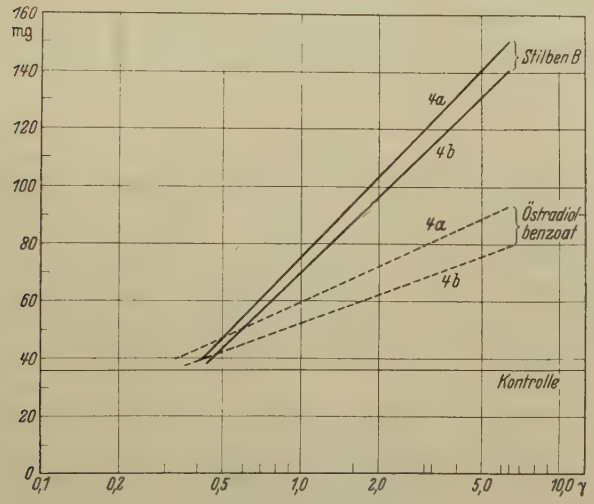


Abb. 4.

Die Gleichungen (5—8) sind in Abbildung 4 graphisch dargestellt. Der Übersichtlichkeit halber sind die tatsächlich gemessenen Werte hier nicht mehr eingezeichnet worden. Zur Berechnung der relativen Wirksamkeit sind wir von dem Ölkontrollversuch, der parallel mit Versuch 4a gelaufen ist, ausgegangen und haben mit Hilfe der obenstehenden Gleichungen die Dosen von Stilben B und Östradiolbenzoat berechnet, die zu einer Verdoppelung des Uterusgewichtes auf 72 mg erforderlich waren. Setzt man mit anderen Worten für $y = 72$ ein und errechnet sich die vier

verschiedenen Werte für $x = \log D$, so ergeben sich folgende Dosen- oder Wirksamkeitsverhältnisse:

$$\frac{D_{\text{Östradiolbenzoat}}}{D_{\text{Stilben B}}} = \frac{1{,}95}{0{,}91} = 2{,}14 \text{ (Vers. 4a)}$$

und

$$\frac{D_{\text{Östradiolbenzoat}}}{D_{\text{Stilben B}}} = \frac{3{,}78}{1{,}05} = 3{,}6 \text{ (Vers. 4b).}$$

Es zeigt sich somit, daß das Stilben B dem Östradiolbenzoat etwa und mindestens um das Doppelte an Uteruswachstumswirkung überlegen ist. Zu diesem Resultat gelangt man auf einfachere Weise auch, wenn man im Diagramm 4 in Höhe von 72 mg eine Horizontale legt und am Schnittpunkt mit den Wirksamkeitsgeraden die betreffenden Dosen abliest. Würde man anstatt der Verdoppelung die Verdreifachung des Uterusgewichtes als Grundlage zur Aufstellung von Wirksamkeitsrelationen nehmen, so würde sich das Stilben B noch stärker überlegen zeigen.

Es ist wohl wichtig, nochmals darauf hinzuweisen, daß in allen Versuchen keine freie Flüssigkeit mitgewogen wurde. Die Uteri waren, wie früher geschildert, alle angeschnitten und zwischen Filtrierpapier ausgepreßt und abgetrocknet. Was gewogen wurde, war also das Uterusgewebe.

Wir haben die Versuchsergebnisse von 4a und b auch noch auf eine andere Weise behandelt. Alle Uterusgewichte wurden auf 100 g Körpergewicht umgerechnet. Mit Hilfe der sich ergebenden neuen Zahlenwerte sind dann wieder die Gleichungen für die Regressionslinien aufgestellt worden. Auch so zeigte sich die Überlegenheit des Stilbens B gegenüber dem Östradiolbenzoat und die Relationswerte waren nicht kleiner, sondern sogar noch größer, vor allem bei 4 b.

Zusammenfassung.

Die wenigen in der Literatur vorliegenden vergleichenden Messungen über die Uteruswachstumswirkung der Follikelhormone, des Dioxydiäthylstilbens (Stilben A) und seines Dipropionats (Stilben B) wurden durch neue Messungen an Ratten ergänzt. Vergleichssubstanzen waren Östron und Östradiolbenzoat. Stilben A erwies sich immer stärker als Östron, Stilben B stärker als Stilben A und auch stärker als Östradiolbenzoat wirksam. Die Zahlenwerte für die Wirksamkeitsverhältnisse sind immer an bestimmte Versuchsbedingungen und an bestimmte rechnerische Annahmen gebunden. Für andere Versuchsbedingungen und andere Annahmen gelten andere Wirksamkeitsrelationen. Nach Hinweis hierauf kann über das Ergebnis der hier durchgeführten Versuche folgendes gesagt werden:

1. An infantilen Ratten ist Stilben A 15mal so wirksam wie Östron. Bei kastrierten Ratten zeigt sich eine etwa 8fache Überlegenheit des Stilbens A.

2. Nach Versuchen an infantilen Ratten kommt von den beiden Stilbenen dem Stilben B die bei weitem stärkere Uteruswachstumswirkung zu.

3. Stilben B ist bei kastrierten Ratten mindestens doppelt so wirksam wie Östradiolbenzoat. Dasselbe gilt nach früheren Versuchen aus unserem Laboratorium auch für infantile Ratten.

Literatur.

1) Burn: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin, Verlag Jul. Springer, 1937. — 2) Campbell, Dodds, Lawson u. Noble: Lancet **237**, 312 (1939). — 3) Dingemanse: Ndld. Tschr. Geneesk. Nr. 18, S. 1775 (1940). — 4) van Eekelen: Ebenda S. 1777. — 5) Grab: Münch. med. Wschr. **86**, 436 (1939). — 6) Huf: Im Druck, erscheint in der Klin. Wschr. — 7) Kreitmair u. Sieckmann, Klin. Wschr. **18**, 156 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Tübingen.
(Direktor: Professor F. Haffner.)

Zum Nachweis gefäßerweiternder Wirkungen.

Von
Dr. A. Holste.

(Eingegangen am 10. März 1941.)

Im folgenden wurde der Versuch unternommen, die Wirkung gefäßerweiternder Pharmaka an einem durch operative Eingriffe, Narkose usw. nicht beeinflußten und damit im Vollbesitz seiner Regulationsfähigkeiten befindlichen Organismus zu prüfen. Als Test diente die Ergotaminwirkung am Augenhof des Hahnes. In Vorversuchen wurde festgestellt, daß bei Anwendung kleiner Ergotamindosen (0,02—0,05 mg/kg) eine eindeutige und spontan völlig reversible Abblassung des Augenhofes eintritt, deren Maximum etwa $^1/_2$ Stunde nach der Injektion erreicht wird und etwa 3 Stunden lang anhält. Beim unbeeinflußten Tier tritt während dieser Zeit keine Durchblutungszunahme ein; optische, akustische oder sonstige Reize vermögen jedoch die Ergotaminwirkung vorübergehend zu durchbrechen. Im Hinblick auf dieses psychogene Erröten wurden neben den bekannten spezifisch gefäßerweiternden Mitteln auch einige zentrale Excitantien und Narkotica untersucht.

Zu den Versuchen wurden $^3/_4$jährige Leghorn-Hähne im Gewicht von 1—1,5 kg verwendet. Tiere mit einem schon von vornherein blassen Augenhof, ferner solche, die leicht zu spontanen Änderungen der Durchblutung neigten, wurden ausgeschaltet. Als günstigste Tageszeit erwiesen sich die Abendstunden nach dem Füttern, da die Tiere dann am ruhigsten waren. Die Untersuchung geschah in einem störungsfreien Raume mit guter gleichmäßiger Beleuchtung. Vorteilhaft erwies es sich, das Versuchstier während des Experimentes auf dem Arm zu halten. Die Injektion des Ergotamins und der Gegenmittel geschah mit Ausnahme von Suprarenin, das intravenös verabreicht wurde und der Inhalation von Äther, Chloroform und Amylnitrit subcutan unter die Haut des Brustmuskels. Bei Verabreichung von 0,02 mg/kg Ergotamin mit Zwischenpausen von 2—3 Tagen konnten die meisten Tiere anstandslos wiederholt benutzt werden; nach häufigerer Wiederholung mußte die Ergotamindosis, um maximale Abblassung zu erhalten, auf 0,03 mg/kg gesteigert werden. Die Injektion der Gegenmittel geschah regelmäßig $^1/_2$ Stunde nach der des Ergotamins und nachdem der Eintritt starker Abblassung festgestellt war. Der Einstich als solcher konnte ebenfalls Rötung des Augenhofes veranlassen, die aber rasch vorüberging und von einer nachfolgenden Substanzwirkung ohne Schwierigkeit unterschieden werden konnte. Wir begannen durchweg mit sehr kleinen Dosen der Gegenmittel und steigerten

diese von Versuch zu Versuch, bis entweder Wirkung am Augenhof oder eine deutliche Allgemeinwirkung zu beobachten war.

Die wichtigsten Endergebnisse der zahlreichen Versuche sind in der folgenden Übersichtstabelle kurz zusammengestellt.

Übersichtstabelle über die Aufhebung der Ergotaminwirkung. (++ = eindeutige, + = angedeutete, — = keine Gefäßerweiterung).

Nr.	Substanz	Dosis mg/kg (subcut.)	Gefäßerweiterung		Allgemeinwirkung
			Stärke	Dauer (Std.)	
1	Suprarenin	0,05 i. v.	++		
2	Amylnitrit	Inhal.	—		
3	Nitroglycerin ...	30	+	1	Dyspnoe
4	Natr. nitros.....	150	++		Dyspnoe, Met Hb, Tod
5	Histamin	8	—		
6	Pilocarpin	3	++	1	Salivat., Defäkat.
7	Acetylcholin ...	4	++		„ , Atemerregung
8	Doryl	0,1	++	1/2	„
9	Esmodil	3	++	1/2	„ , Defäkat.
10	Papaverin	100	++	3/4	„
11	Eupaverin	150	++	1/2	„ , Defäkat.
12	Codein.....	120	++	1	„ , Atemerregung
13	Atropin.....	1	—		
14	Skopolamin	5 bis 25	—		Ataxie
15	Morphin	20 „ 100	—		Apathie, Reflexerregbarkeit gesteigert.
16	Sympatol	5 „ 30	—		
17	Ephedrin	20 „ 100	+ bis ++		Atemerregung
18	Cardiazol	4 „ 80	+ bis ++	1/2	„
19	Neospiran.....	2 „ 30	+ bis ++	1/2	„
20	Johimbin	2	++	1/2	Unruhe, Salivation
21	Koffein.....	25 „ 150	—		Excitation
22	Pyramidon.....	120	—		„
23	Äther	Inhal.	++		Narkose
24	Chloroform.....	„	++		„
25	Chloralhydrat ..	150	—		„ , Tod
26	Evipan	100	—		„
27	Luminal	50 bis 250	—		Sedation bis Narkose

Zuerst wurde eine Reihe von Organpräparaten untersucht, denen mehr oder weniger starke gefäßerweiternde Wirkung zugesprochen wird (Lacarnol, MAP Henning, Myoston, Eutonon, Animasa, Padutin, Telatuten, Cardiotrat), ohne daß sich dabei an unserem Versuchsobjekt irgendwelche Gefäßerweiterung nachweisen ließ, trotzdem schließlich Dosen für den Menschen verwendet wurden. Wie aus der Übersichtstabelle hervorgeht, zeigte dagegen Suprarenin i. v. eine starke Hyperämisierung, die schlagartig einsetzte und von keinen merklichen Allgemeinerscheinungen begleitet war, so daß die Wirkung als direkte Gefäßwirkung angesehen werden darf. Diese paradoxe gefäßerweiternde Wirkung des Adrenalins war besonders stark, wenn noch etwas höhere Ergotamindosen (0,1 mg pro kg) zur Vorbehandlung benutzt wurden.

Die spezifischen Gefäßmittel der Nitritgruppe wirkten erst in Dosen gefäßerweiternd, die deutliche, zum Teil tödliche Vergiftungserscheinungen

hervorriefen. Histamin blieb bis zu Dosen von 8 mg ohne erkennbare Wirkung. Dagegen trat bei sämtlichen untersuchten parasympathisch erregenden Stoffen starke Gefäßerweiterung ein; sie war stets von erheblicher Salivation, zum Teil auch Defäcation und allgemeiner Unruhe begleitet und wurde durch Atropin (1 mg pro kg) Hand in Hand mit der Salivation unterdrückt. Papaverin und Eupaverin wirkten ebenfalls stark gefäßerweiternd; in gleicher Weise verhielt sich Codein. Die Gefäßerweiterung war auch hier von starker Salivation begleitet und konnte mit dieser durch Atropin aufgehoben werden. Atropin selbst, ebenso Skopolamin und Morphin machten keine Gefäßerweiterung. Wir möchten daraus schließen, daß die beobachtete Hyperämisierung bei den Stoffen dieser Gruppe nicht durch eine direkte Wirkung auf die Gefäße zustande kommt, sondern eine sekundäre Begleiterscheinung der sekretionserregenden Wirkung darstellt.

Ephedrin, Cardiazol, Neospiran und Yohimbin zeigten in Dosen, die allgemeine Erregungserscheinungen, insbesondere an der Atmung, auslösten, ebenfalls Erweiterung der Gefäße des Augenhofes, wirken also auch indirekt. Bemerkenswerterweise machte Koffein trotz hoher Dosierung und deutlicher Allgemeinerregung keine Hyperämie.

Von den untersuchten Narkotica verursachten Äther und Chloroform starke, die anderen dagegen keine Gefäßerweiterung, trotzdem sie ebenfalls bis zur tiefen, zum Teil tödlichen Narkose dosiert wurden. Wir nehmen daher auch hier an, daß an der positiven Wirkung nicht die Narkose, sondern eine lokale reflektorische Einwirkung, die durch die Inhalation der beiden Narkotica zustande kam, schuld ist.

Die Versuche verliefen somit insofern negativ, als sich das Versuchsobjekt nicht geeignet erwies, die Wirkung der mehr oder weniger als spezifisch gefäßerweiternd geltenden Pharmaka nachzuweisen oder gar auszuwerten. Andererseits führten sie jedoch zu dem unerwarteten Ergebnis, daß unter den gleichen Bedingungen durch indirekt wirkende Mittel eindeutige Gefäßerweiterung herbeigeführt werden kann.

Zusatz von F. Haffner: Daß die Erweiterung bestimmter Gefäßgebiete am regulationsfähigen Organismus ein sehr komplexes Problem darstellt, hat uns leider die praktische Erfahrung über die Unsicherheit der gefäßerweiternden Therapie schon längst gelehrt; die vorstehenden Ergebnisse bestätigen diese Erkenntnis experimentell. Daß indirekte Wirkungen sich durchschlagender erweisen wie die spezifischer Mittel, fordert m. E. dringend dazu auf, neben der — selbstverständlich notwendigen — Feststellung der pharmakologischen Grundwirkungen am isolierten Organ oder dem mehr oder weniger seiner Regulationsfähigkeit beraubten Versuchstier auch das Verhalten der Pharmaka am möglichst intakt belassenen Organismus systematisch zu prüfen, auch wenn dies nur mit primitiven Methoden geschehen könnte.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kopenhagen.
(Prof. Dr. Knud. O. Møller.)

Untersuchungen über das Verhalten des Sulfatiazols im Organismus.

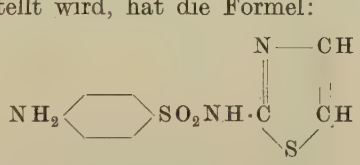
Von

Margrethe Hejde Simesen.

Mit 7 Textabbildungen (21 Einzelbildern).

(Eingegangen am 31. Januar 1941.)

Sulfatiazol ist eines der Resultate der Bemühungen, ein Präparat mit den gleichen therapeutischen Eigenschaften wie Sulfapyridin herzustellen, aber ohne dessen Nebenwirkungen. Sulfatiazol wurde etwa gleichzeitig von Fosbinder und Walter[1], Lott und Bergeim[2] (USA.), Hartmann und Merz[3] (Schweiz), Laudon und Sjögren[4] (Schweden) und K. A. Jensen[5] (Dänemark) unabhängig voneinander hergestellt. Sulfatiazol, das hier zu Lande unter dem Namen Chemosept von der A. G. Ferrosan hergestellt wird, hat die Formel:



und unterscheidet sich vom Sulfapyridin also dadurch, daß ein Tiazolring an Stelle eines Pyridinringes getreten ist.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Verhalten des Sulfatiazols im Organismus bei Patienten untersucht, die gegen eine gonorrhoische Infektion mit dem Mittel behandelt wurden.

Die quantitative Bestimmung erfolgte nach der Hechtschen[6] Modifikation der Methode von Marshall zur Sulfanilamidbestimmung.

Das Verhalten nach einer einmaligen peroralen Sulfatiazoleingabe geht aus den Kurven der Abb. 1 hervor. In zwei Fällen wurde 1 g, in 3 Fällen 2 g per os gegeben, wonach die Sulfatiazolkonzentration im Blute laufend untersucht wurde.

Abb. 1 zeigt, daß die Sulfatiazolkonzentration 2—4 Stunden nach der Eingabe ihren Maximalwert erreicht und im Laufe von 8—12 Stunden auf etwa die Hälfte dieses Wertes absinkt. 24 Stunden nach der Eingabe

---

[1] Fosbinder u. Walter: J. amer. chem. Soc. **61**, 2032 (1939). — [2] Lott u. Bergeim: Ebenda S. 3593. — [3] Hartmann u. Merz: Schweiz. med. Wschr. **70**, 337 (1940). — [4] Laudon u. Sjögren: Svensk kemisk Tidskrift **52**, 64, (1940) — [5] Jensen, K. A.: Dansk Tidsskrift for Farmaci **15**, 41 (1941). — [6] Hecht, G.: Derm. Wschr. **106**, 261 (1938).

kann Sulfatiazol noch im Blute nachgewisen werden, wobei es sich allerdings um sehr geringe Mengen handelt. In einem Falle wurde gleichzeitig mit der Konzentration im Blute auch die Ausscheidung im Urin zu gleichen Zeitpunkten fortlaufend untersucht. Die Sulfatiazolkonzentration im Urin erreicht hier ihr Maximum etwa 2 Stunden später als im Blute. In den anderen Fällen wurde die Ausscheidung für je 24 Stunden untersucht. Im Laufe des ersten Tages nach der Eingabe werden etwa 70 % ausgeschieden, wovon 55 % als nicht gekoppeltes („freies") Sulfatiazol auftreten. In sehr geringen Konzentrationen kann Sulfatiazol noch 3 Tage nach der Eingabe im Urin nachgewiesen werden.

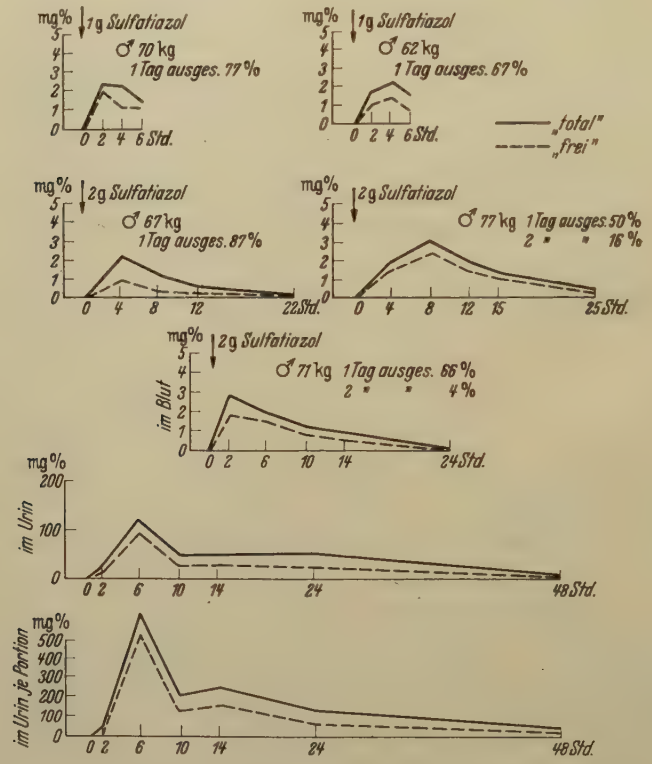


Abb. 1. Sulfatiazolkonzentration im Blute nach einmaliger Eingabe.

Untersuchung der Sulfatiazolkonzentration im Blute nach wiederholter Eingabe.

Auf Grund verschiedener Zeitpunkte für die Blutentnahme ist das Material in 3 Gruppen eingeteilt worden:

1. Patienten auf der Abteilung D des Militärhospitals Kopenhagen.
2. Patienten der Abteilung H des Reichshospitals.
3. Patienten der Poliklinik der Abteilung H des Reichshospitals.

Das Militärhospital verwendet folgende Dosis: 0,1 g 12 mal täglich, 0,3 g 6mal täglich und 0,5 g 6mal täglich. In allen Fällen Behandlungspause während der Nacht. Das Reichshospital verteilt die Eingabe in der Regel auf 6 tägliche Dosen und Behandlungspause in der Nacht. Die Resultate von Gruppe 1 entsprechen im großen und ganzen den Resultaten

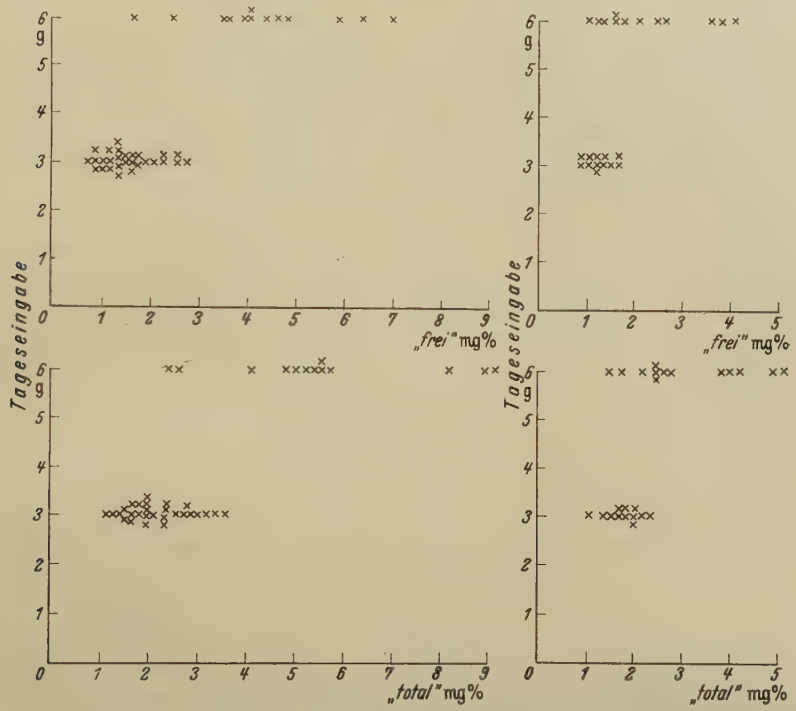


Abb. 2. Abhängigkeit zwischen Sulfatiazolkonzentration im Blute und Tageseingabe (Resultate von Patienten des Reichshospitals). Der linke Teil der Abbildung enthält Werte von Blutproben, die zwischen der dritten und vierten täglichen Eingabe entnommen worden waren, und der rechte Teil Werte von Blutproben, die vor der ersten morgendlichen Eingabe entnommen waren und entsprechen daher dem Minimalwert des Tages.

von Gruppe 2. Nur die Resultate der Gruppe 2 sind angezeichnet in der Abb. 2.

Die Resultate aller 3 Gruppen streuen recht erheblich. Bei den im Krankenhaus eingelegten Patienten, wo die äußeren Bedingungen die gleichen waren, muß die Streuung auf dem individuellen Verhalten beruhen. Eine Beziehung zwischen dem Gewicht des Patienten und der Blutkonzentration konnte nicht nachgewiesen werden. Bei den ambulant behandelten Patienten mußte die Eingabe dem Patienten selbst überlassen werden und dürfte kaum mit der Regelmäßigkeit erfolgt sein, wie bei den im Hospital befindlichen. Es zeigt sich jedoch, daß die Streuung in dieser Gruppe nicht größer ist. Die Sulfatiazolkonzentration variiert nicht nur von Patient zu Patient. Untersuchung des gleichen Patienten

hat ergeben, daß die Konzentration im Blute bei anscheinend ganz gleichen Bedingungen bis auf ± 50 % innerhalb des gleichen Tages oder von Tag zu Tag schwanken kann.

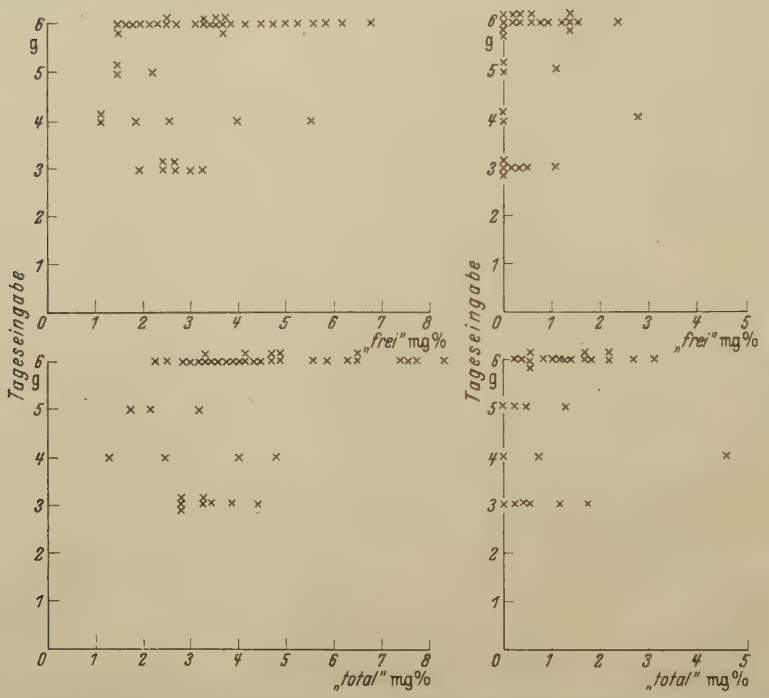


Abb. 3. Abhängigkeit zwischen Sulfatiazolkonzentration im Blute und Tageseingabe (Resultate von Patienten der Poliklinik des Reichshospitals). Die auf der linken Hälfte der Abbildung angeführten Werte stammen von Blutproben, die in der Mitte des Tages von Patienten während der Behandlung entnommen wurden, die rechts angeführten Werte aus Blutproben, die etwa 24 Stunden nach der letzten Eingabe entnommen wurden.

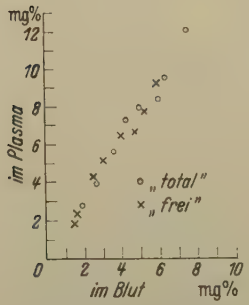


Abb. 4. Abhängigkeit zwischen Sulfatiazolkonzentration in Plasma und Totalblut.

Aus den Abbildungen kann entnommen werden, daß die Sulfatiazolkonzentration im Blute durchschnittlich von der Hälfte bis zur gleichen Anzahl mg% beträgt, wie Gramm Sulfatiazol im Verlaufe von 24 Stunden eingegeben worden sind. Aus dem zuvor Erwähnten geht aber hervor, daß eine derartige Bewertung in dem einzelnen Fall nur von geringer Bedeutung ist. Wenn die Sulfatiazoleingabe aufhört, so fällt die Konzentration im Blute im Laufe von 12 Stunden auf etwa die Hälfte, so wie es auch nach einmaliger Eingabe der Fall war.

In allen Fällen konnte Sulfatiazol in freier und gebundener Form nachgewiesen werden. Das

Verhältnis von freier zur totalen Sulfatiazolkonzentration ist im Durchschnitt 4 : 5, kann aber erheblich variieren.

Aus Abb. 4 ist ersichtlich, daß Sulfatiazolkonzentration in Plasma und Totalblut sich wie 3 : 2 verhalten. Dieses Verhältnis ist für die freie und gebundene Verbindung das gleiche und scheint sehr konstant zu sein.

Das Verhalten der Ausscheidung nach wiederholter Sulfatiazoleingabe.

Abb. 5 zeigt, daß die Konzentration einigermaßen proportional mit der Eingabe wächst, und daß das Verhältnis zwischen freier und totaler Sulfatiazolkonzentration im Urin im Durchschnitt wie 4 : 5 ist.

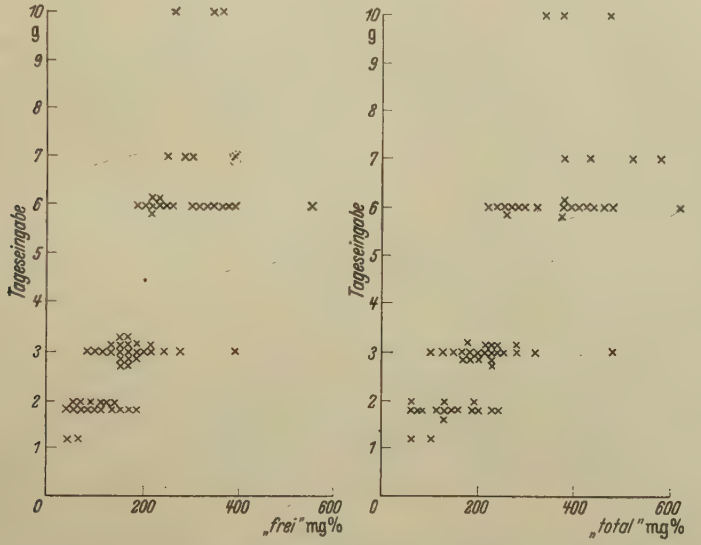


Abb. 5. Abhängigkeit zwischen der Sulfatiazolkonzentration in dem in 24 Stunden ausgeschiedenen Urin und der Tageseingabe.

Die Untersuchungen über die Ausscheidung haben außerdem gezeigt, daß die Konzentrationen im Nachturin im Durchschnitt etwa 50% höher liegen als die des Tagesurins, was sowohl für die freie, als auch für die totale Verbindung gilt. Die durchschnittliche Nacht- und Tagesdiurese waren gleich.

Abb. 6 zeigt, daß im Verlauf eines Tages etwa 75% der täglichen Eingabe ausgeschieden werden; 60% hiervon sind nicht gebundenes Sulfatiazol.

Aus Abb. 7 ist ersichtlich, daß insgesamt etwa 80% des eingegebenen Sulfatiazols ausgeschieden werden, wovon 65% als freies Sulfatiazol auftreten.

Wenn die Sulfatiazoleingabe aufhört, wird der größte Teil des im Organismus vorhandenen Sulfatiazols im Verlaufe der folgenden 24 Stunden

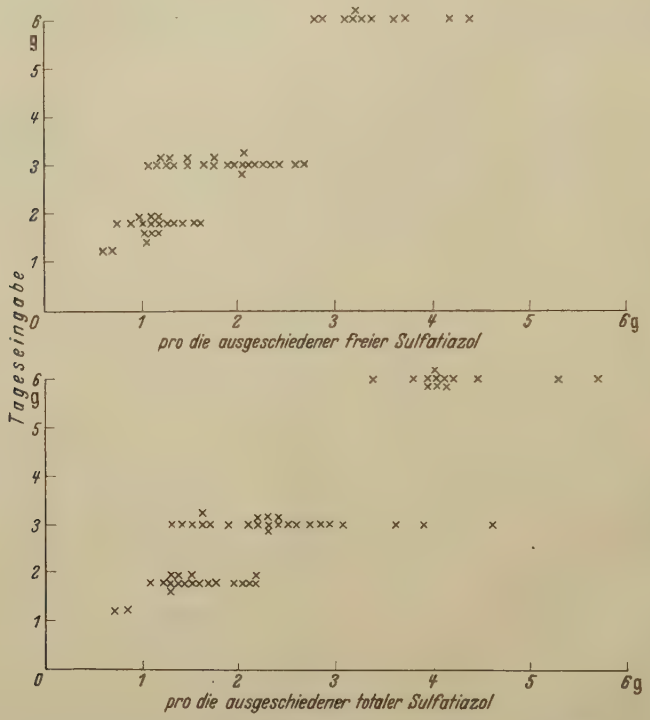


Abb. 6. Abhängigkeit zwischen täglicher Eingabe und täglicher (24 Stunden) Ausscheidung.

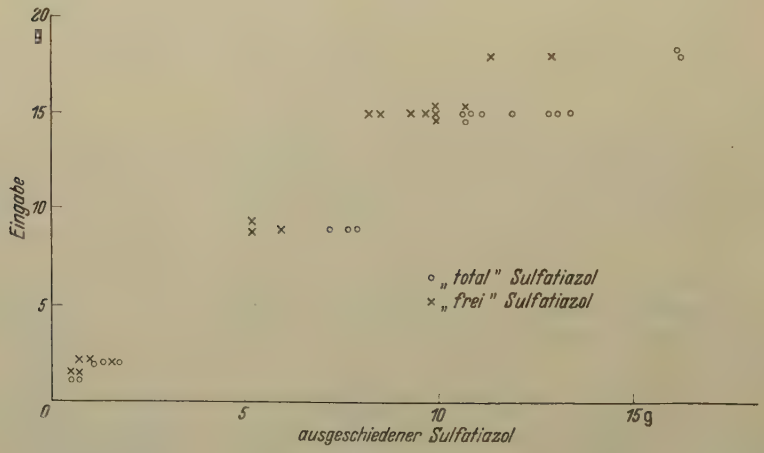


Abb. 7. Abhängigkeit zwischen der gesamten Eingabe und der gesamten Ausscheidung.

ausgeschieden, entsprechend den Befunden nach einmaliger Eingabe. Aber 2 und 3 Tage nach Aufhören der Eingabe kann Sulfatiazol im Urin nachgewiesen werden.

Die hier gefundenen Resultate stimmen recht gut mit Gsells [7] und Frisks [8] Arbeiten überein. Die von Gsell im Blute gefundenen Konzentrationen (Gsell hat anscheinend nur die freie Verbindung bestimmt) sind aber größer als die hier gefundenen, selbst wenn man bedenkt, daß Gsell Konzentrationen im Serum bestimmt hat, die $^3/_2$mal größer sind (vgl. Abb. 5), als die im Totalblut gefundenen Konzentrationen. Da Gsell indessen findet, daß die tägliche Ausscheidung etwa 50 % der täglichen Eingabe ausmacht, was geringer ist, als die in der vorliegenden Untersuchung gefundenen Werte, und da eine größere Ausscheidung eine gegeringere Blutkonzentration bedingt (vgl. Abb. 1), kann die mangelhafte Übereinstimmung vielleicht hierdurch erklärt werden. Frisk findet dagegen im Gegensatz zu den vorliegenden Befunden, daß die Sulfatiazolkonzentration größeren individuellen Schwankungen nicht unterworfen ist.

In keinem der hier untersuchten Fälle wurden unangenehme Wirkungen beobachtet, die mit Sicherheit auf die Sulfatiazoleingabe zurückgeführt werden könnten. Von amerikanischer Seite (Arnett [11], Pepper und Horack [12], Long, Haviland, Edwards und Bliss [13]) sind aber eine Reihe von mehr oder weniger ernsten Nierenkomplikationen beschrieben worden. Nach van Dyke, Greep, Rake und Mac Kee [10] sowie Meier. Allermann und Merz [9] ist Sulfatiazol nur etwa halb so giftig wie Sulfapyridin, aber bei toxischen Dosen treten die gleichen toxischen Wirkungen auf wie bei den übrigen Sulfanilamiden: Erbrechen Krämpfe Lähmungen und Nierenschäden. Nach intraperitonealer Sulfatiazolzufuhr habe ich bei Ratten (5 cg/100 g) Hämaturie gefunden, und die Nierenmikroskopie zeigte das gleiche Bild wie nach einer Sulfapyridineingabe von gleicher Menge.

Da die Verletzungen der Harnorgane entsprechend dem Verhalten nach Sulfapyridineingabe von ausgefälltem Sulfatiazol und Azetylsulfatiazol mechanisch bedingt sind, wurde die Löslichkeit dieser Verbindungen bei 37° im normalen Urin bei verschiedenem p_H untersucht. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle 1 zusammengestellt, wo gleichzeitig die Ergebnisse von einigen früheren Untersuchungen (Lebel, Schroeder und Simesen [14]) über die Löslichkeit des Sulfapyridins angeführt sind. Da normalerweise sowohl die freie als auch die azetylierte

---

[7] Gsell, O.: Schweiz. med. Wschr. **70**, 342 (1940). — [8] Frisk, A. R.: Nord. Med. **72**, 1483 (1940). — [9] Meier, Allermann u. Merz: Schweiz. med. Wschr. **70**, 338 (1940). — [10] van Dyke, Greep, Rake u. Mac Kee: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **42**, 410 (1939). — [11] Arnett, J. H.: J. amer. med. Assoc. **115**, 362 (1940). — [12] Pepper, D. S., u. H. M. Horack: Amer. J. med. Sci. **199**, 364 (1940). — [13] Long, Haviland, Edwards u. Bliss: J. Amer. med. Assoc. **115**, 364 (1940). — [14] Lebel, Schroeder u. Simesen: Acta med. scand. (Schwd.) CV, 395 (1940).

Verbindung im Urin vorhanden ist, wurde gleichzeitig die Löslichkeit von einer Mischung von Sulfatiazol und Azetylsulfatiazol und einer Mischung von Sulfapyridin und Azetylsulfapyridin untersucht.

Tabelle 1. Löslichkeit des Sulfatiazols, Azetylsulfatiazols, Sulfapyridins und Azetylsulfapyridins in normalem Urin bei verschiedenem p_H. Die Bestimmungen sind unter aseptischen Kautelen ausgeführt. Die Ziffern bedeuten: mg aufgelöste Substanz pro 100 ccm Urin bei 37° C.

p_H	Sulfatiazol	Azetyl-sulfatiazol	Sulfatiazol + Azetyl-sulfatiazol	Sulfapyridin	Azetyl-sulfapyridin	Sulfapyridin + Azetyl-sulfapyridin
4,0	60	0,6	70	72	61	
6,0	65	0,6	75	80	70	150 (80*)
8,0	780	460	740 (560*)	140	120	260 (120*)
8,7				255	166	

* Die eingeklammerten Zahlen bezeichnen jeweils die freie Sulfatiazol- und die freie Sulfapyridinmenge.

Diese Resultate zeigen, daß Sulfatiazol und Sulfapyridin etwa gleiche Löslichkeit bei p_H 4 und 6 haben, während Azetylsulfatiazol bei diesen Werten wesentlich schwerer löslich ist als Azetylsulfapyridin. Bei p_H 8 sind dagegen Sulfatiazol und Azetylsulfatiazol 3—4mal besser löslich als Sulfapyridin und Azetylsulfapyridin. Für Sulfatiazol, Azetylsulfatiazol, Sulfapyridin und Azetylsulfapyridin gilt, daß die Löslichkeit sich nur wenig mit dem p_H ändert, solange der Urin sauer ist. Erst bei alkalischer Reaktion steigt die Löslichkeit mit dem p_H erheblich, und zwar am stärksten für die Sulfatiazolverbindungen.

Während von einer Mischung aus Sulfapyridin und Azetylsulfapyridin ebensoviel gelöst wird wie von den einzelnen Verbindungen zusammen, ist dies bei den Sulfatiazolverbindungen nicht der Fall. Die Löslichkeit beider Verbindungen ist in der Mischung geringer, als wenn die beiden Stoffe jeder für sich gelöst werden.

Meier, Allermann und Merz haben folgende Löslichkeit für Sulfatiazol und Sulfapyridin gefunden:

Tabelle 2.

mg pro 100 cm³ Urin	$p_H = 5{,}8$	$p_H = 7{,}0$	$p_H = 8{,}6$
Sulfatiazol	490 — 470	570 — 590	790 — 800
Sulfapyridin.....	180 — 170	200 — 190	230 — 210

Die Zusammenstellung zeigt gute Übereinstimmung für die basischen Werte; die Löslichkeit bei sauren p_H-Werten ergibt jedoch große Abweichungen. Es dürfte nicht wahrscheinlich sein, daß der zur Untersuchung angewandte Urin die Ursache für diese Abweichungen ist, da bei basischen p_H-Werten Übereinstimmung vorhanden ist. (Die abweichenden

Resultate könnten erklärt werden, wenn die p_H-Werte der von Meier, Allermann und Merz untersuchten Urine *vor* dem Versuch bestimmt worden sind und während desselben eine Änderung in alkalischer Richtung aufgetreten wäre. Ein derartiges Verhalten ist möglich, wenn der Urin bei 37° längere Zeit steht oder geschüttelt wird. In den vorliegenden Versuchen erwies es sich so als notwendig, steril zu arbeiten, um die jeweils gewünschten p_H-Werte aufrechterhalten zu können.)

Die in Abb. 5 angeführten, im Urin gefundenen Sulfatiazolkonzentrationen übersteigen in den meisten Fällen die bei saurer Reaktion löslichen Mengen. Die p_H-Werte der betreffenden Urine, die allerdings nicht regelmäßig bestimmt wurden, lagen bei p_H 5—6. Wenn trotzdem nur ausnahmsweise ein Bodensatz ausgeschieden wird, deutet dies darauf hin, daß der Organismus, entsprechend dem Verhalten bei Sulfapyridin, stabile, übersättigte Lösungen bilden kann. Keine der in Abb. 5 aufgeführten Konzentrationen übersteigt jedoch die bei $p_H = 8$ löslichen Mengen. Bei gewöhnlichen therapeutischen Dosen sollte man sich nach den vorliegenden Untersuchungen bei nicht zu kleiner Diurese und eventueller Alkalisierung des Urins gegen Ausfällung der Sulfatiazolverbindungen in den Harnwegen sichern können; die gleichen Vorkehrungen können nach Sulfapyridineingabe zwar die Möglichkeit der Ausfällung herabsetzen, diese aber nicht ausschließen.

Zusammenfassung.

Sulfatiazol findet sich im Blute und Urin in freier und gebundener Form. Das Verhältnis der freien zur totalen Menge ist durchschnittlich 4 : 5.

Die Sulfatiazolkonzentrationen im Plasma und Gesamtblut verhalten sich wie 3 : 2. Die im Blute durchschnittlich erreichte Sulfatiazolkonzentration beträgt die Hälfte bis zur gleichen Menge in Milligrammprozent, die täglich in Gramm eingegeben wird. Die im einzelnen Falle erreichte Konzentration kann häufig jedoch wesentliche Abweichungen von diesem Verhalten zeigen.

Nach Unterbrechung der Sulfatiazoleingabe fällt die Konzentration im Blute im Verlaufe von 12 Stunden auf etwa die Hälfte ab.

Die tägliche Ausscheidung beträgt etwa 75% der Tageseingabe; insgesamt werden etwa 80% einer eingegebenen Sulfatiazolmenge ausgeschieden; hiervon sind etwa 65% nicht gekoppeltes Sulfatiazol.

Die Löslichkeit des Sulfatiazols und Azetylsulfatiazols im Urin bei 37° C und bei verschiedenem p_H wurde untersucht.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Zürich.
(Direktor: Prof. Dr. med. W. Löffler.)

Die Toxizität der Sulfanilamid-Derivate für das Blut und das blutbildende System im Tierversuch (Innenkörperanämien).

Von

Hanny Hurschler.

Mit 1 Textabbildung (3 Einzelbildern).

(Eingegangen am 18. März 1941.)

Die vorliegende Arbeit stellt sich zur Aufgabe, die Sulfanilamid-Derivate, die heute klinisch in der Bekämpfung der verschiedensten Infektionen eine große Bedeutung erlangt haben, im Tierversuch auf ihre verschiedene toxische Wirkung auf das Blutbild und das blutbildende System näher zu untersuchen. Wir sind von klinischen Beobachtungen über zum Teil schwere Veränderungen, die der Behandlung mit diesem wirksamen Chemotherapeutikum gefolgt sind, ausgegangen.

Bevor wir auf unsere Versuche eingehen, geben wir eine kurze Zusammenfassung über die historische Entwicklung der Sulfanilamid-Derivate und die bisher in der Literatur vorliegenden Beobachtungen ihrer Beeinflussung des Blutbildes.

Im Dezember 1932 wurde das Streptozon, oder auch Prontosil genannt, von Fritz Mietsch und Josef Klarer in der I. G. Farben in Deutschland synthetisiert und zum Patent angemeldet. Über die ersten klinischen Erfahrungen berichten Foerster 1933, Grütz 1934, Veil 1934.

Erst nach den ausführlichen Berichten von Domagk 1935 über die erfolgreiche Wirkung des Prontosils im Tierexperiment und Mitteilungen über die klinischen Erfolge von Klee und Römer, sowie Schreus, fand dieses Chemotherapeutikum allgemeine Beachtung. Angeregt durch die Erfolge mit dem Prontosil wurden nun auch andere Sulfanilamid-Derivate synthetisiert. Als eines der wirksamsten hat sich das 1938 durch Whitby in die Therapie eingeführte M. u. B. 693, Sulfanilamidopyridin oder Dagénan erwiesen, sowie das 1940 in der Schweiz von der Chem. Ind. Basel hergestellte Ciba 3714, Sulfanilamidothiazol oder Cibazol (Klin. Berichte von Gsell, Miescher u. a.).

Neben einer sehr zahlreichen Literatur über die klinischen Erfolge mit Sulfanilamid-Derivaten in der Bekämpfung von Strepto-, Staphylo-, Meningo-, Pneumo- und Gonokokkeninfektionen aus Deutschland, Frankreich, England und Amerika liegen auch schon sehr bald Mitteilungen über gewisse Nebenerscheinungen vor, die auf die Toxizität der Sulfanil-

amid-Derivate (S.A.D.) schließen lassen. Es sollen hier nur klinische Beobachtungen und Tierexperimente, die auf eine toxische Wirkung auf das Blut und das blutbildende System hinweisen, erwähnt werden. (Siehe umfassende Literatur bei Long und Bliss 1939, Domagk und Hegler 1940, Bickel 1940.)

Genaue hämatologische Befunde auf Grund von Tierexperimenten werden erstmals von Hagemann 1937 aufgeführt. Er findet nach Darreichung von Prontosil über eine Zeit von 14 Tagen an Mäusen eine Eosinophilie im Knochenmark, was er als Zeichen einer allergischen Reaktion auslegt. Kreuzmann und Carr beobachten bei Kaninchen keine quantitative Veränderung der roten Blutzellen, aber eine Vermehrung der basophilpunktierten Erythrocyten und eine Eosinophilie, während Wien nach Darreichung von Sulfapyridin bei Ratten, Katzen und einem Hund keine Veränderung des peripheren Blutes feststellen kann.

Hagemann berichtet auch über Hämosiderinablagerungen in der Milz bei mit Prontosil album (A.) behandelten Mäusen, was er als Ausdruck der Zerstörung der roten Blutzellen ansieht, ohne aber das rote Blutbild kontrolliert zu haben. Marshall und Mitarbeiter finden nach Verabreichung von Prontosil A. an verschiedenen Versuchstieren keine Veränderungen des peripheren Blutes und zitieren gleiche Ergebnisse von Chen; Molitor und Robinson finden eine Vergrößerung der Milz nach hohen Dosen von Prontosil A. bei Ratten. Die Milz zeigt bei letzteren Versuchen histologisch eine Ablagerung von braunem Pigment, das zum Teil als Eisen nachgewiesen werden konnte. Das Knochenmark ist hyperplastisch. Bei Hunden ist diese Veränderung nicht nachzuweisen. Ähnliche Untersuchungsresultate findet Nelson an Kaninchen und Hühnern.

Rimington beobachtet als erster nach Verabreichung von Prontosil A. an Ratten eine vermehrte Porphyrinausscheidung, und zwar in der Hauptsache Koproporphyrin III. Er erwähnt auch Eisenpigmentablagerungen in der Milz. Leber und Knochenmark werden als normal beschrieben.

Richardson findet nach Verfütterung von Sulfapyridin an verschiedene Versuchstiere Anämie und Vermehrung der Reticulocyten. Ähnliche Befunde liegen von Machella und Higgins vor. Ihre Versuche an 54 Ratten nach Verabreichung von Prontosil A. ergeben einen Hämoglobinabfall, eine Reticulocytenvermehrung, Makro- und Mikrocytose, Anisocytose und Leukocytose.

Klinische Beobachtungen unter dem Einfluß der Sulfanilamid-Derivate auf das weiße Blutbild bei Menschen liegen von Britton und Hawkins vor. Sie finden bei 16 von 50 mit Prontosil A. behandelten Patienten eine leichte Leukopenie. Campbell kann nie eine Leukopenie feststellen, während Bigler und Mitarbeiter durch klinische Beobachtungen zur Überzeugung gelangen, daß Prontosilbehandlung zu einer Leukopenie führen könne. Long und Bliss konstatieren in 3 Jahren 3 Fälle von schwerer Leukopenie und 5 Fälle von Agranulocytose, bei der allerdings hohen Zahl von mit Sulfanilamid behandelten Patienten des John Hopkins Hospital. Hegglin berichtet über einen Fall von Agranulocytose mit letalem Ausgang nach Sulfapyridinbehandlung und stellt in seiner Arbeit aus dem Schrifttum noch weitere 12 Fälle von Agranulocytose zusammen. Rohr macht an Hand von einigen Fällen von Leuko- und Thrombopenie nach Behandlung mit Sulfanilamid-Derivaten auf eine toxische Schädigung des Knochenmarks aufmerksam.

Jennings und Southwell-Sander weisen erstmals auf eine leichte Anämie hin, die sie bei 3 Patienten nach einer Prontosilbehandlung beobachteten. Gleichzeitig mit dem Hämoglobinabfall konstatieren sie eine Reticulocytenvermehrung. Long und Bliss können diese Beobachtung durch eigene Erfahrung bestätigen und erwähnen noch eine gleichzeitige Verminderung der

Erythrocyten, während Campbell eine Reticulocytenvermehrung ohne Hämoglobinverminderung feststellt.

Harvey und Janvey berichten über 5 Fälle von akuter hämolytischer Anämie, die der Behandlung mit Prontosil A. gefolgt ist. Die Autoren führen an, daß diese hämolytische Anämie große Ähnlichkeit zeige mit der hämolytischen Krise bei Phenylhydrazinvergiftung. H. B. Wood beobachtet nach Behandlung mit Sulfanilamid-Derivaten 21 Fälle von hämolytischer Anämie (8,3% von 144 Kindern und 2,4% von 378 Erwachsenen) mit plötzlichem Abfall des Hämoglobins und der Erythrocyten, Ikterus, Reticulo- und Leukocytose. Auch Long und Bliss und andere Autoren beschreiben hämolytische Anämien. Sie glauben an eine schädigende Wirkung der Sulfanilamid-Derivate auf die Membran der Erythrocyten und an eine daraus folgende Hämolyse.

Cyanose und fragliche Met- und Sulfhämoglobinbildung.

Die in der Literatur am häufigsten erwähnte Nebenerscheinung in der Behandlung mit Sulfanilamid-Derivaten ist wohl die Cyanose (Long und Bliss, Löffler, Hegglin und Maier, Wuhrmann und Undritz u. a.). Ihre Ursache wird von den meisten Autoren in einer Met- oder Sulfhämoglobinbildung gesucht. Spektroskopisch konnte der direkte Nachweis in vielen Fällen nicht erbracht werden. Es ist dies aber nach Moeschlin kein Gegenbeweis, da man nach Warburg eine Konzentration von über 10—15% benötigt, um mit der gewöhnlichen spektroskopischen Methode das Met- oder Sulfhämoglobin nachweisen zu können. Colebrook und Kenny, die im Tierversuch an Mäusen keine Veränderung des Blutbildes wahrnehmen konnten, zitieren Fuller, der in 3 Fällen von hochgradiger Cyanose nach Prontosil solubile bei Menschen Sulfhämoglobin nachgewiesen hat. Molitor und Robinson finden bei einer Mehrzahl von Versuchstieren nach täglicher Verfütterung von 1—2 g Prontosil A. pro kg Körpergewicht nach 7 bis 10 Tagen Cyanose. Rimington, der in seinen Versuchen Cyanose nicht erwähnt, kann im Herzblut keine Met- oder Sulfhämoglobinbildung feststellen. Wendell findet trotz hohen Dosen von Prontosil A. bei Kaninchen kein Methämoglobin, erwähnt aber klinische Beobachtungen von Hartmann, der in 3 Fällen von Cyanose bei Menschen durch Verabreichung von Methylenblau das nachgewiesene Methämoglobin von einer Konzentration von 20% auf 3% herabsetzte. Bigler und Mitarbeiter können nie Met- oder Sulfhämoglobin nachweisen. Frost beobachtet bei einem 12jährigen Mädchen nach Behandlung mit Prontosil anläßlich einer Arthritis suppurativa eine hochgradige Cyanose. Das Kind starb an Atemlähmung und post mortem war Sulfhämoglobin nachweisbar. Discombe und Lond können in 7 Fällen Met- und Sulfhämoglobin spektroskopisch feststellen. Sie erwähnen auch das Verschwinden des Absorptionsstreifens im roten Felde, den das Methämoglobin hervorruft, durch Zusatz von Reduktionsmitteln. Paton und Eaton haben täglich 3 Tage vor Beginn der Prontosil-Medikation Magnesiumsulfat verabreicht. Mit der Prontosilbehandlung stellte sich dann sehr rasch Cyanose ein und Met- und Sulfhämoglobin konnten nachgewiesen werden. Heubner nimmt an, daß nach Behandlung mit Sulfanilamid-Derivaten eine Met- und eine Sulfhämoglobin- oder, wie er es nennt, Verdohämochromogenbildung auftritt. Die Methämoglobinbildung bezeichnet er als harmlos, weil sie nur in der Oxydation des Eisens bestehe und daher reversibel sei. Die zweite Veränderung, das Verdohämochromogen, ist ein Abbauprodukt des Blutfarbstoffes. Heubner zitiert die Experimente von Frl. Restorff, der es gelang, nach einmaliger hoher Dosis von Sulfanilamid an Ratten Methämoglobin und Verdohämochromogen nachzuweisen. Nach Heubner verschwindet das Methämoglobin in etwa 2 Tagen, während das Verdohämochromogen noch längere Zeit nach Sistierung der Medikation nachweisbar ist. Der Spektroskopische Nachweis kann Anlaß zu Verwechs-

lungen geben, weil Methämoglobin und Verdohämochromogen beide einen Absorptionsstreifen im roten Feld liefern. Mit Reduktionsmitteln verschwindet aber der Streifen des Methämoglobins, während der andere oft erst recht deutlich zutage tritt. Mit modernen spektroskopischen und kolorimetrischen Methoden sollen jedoch beide nebeneinander leicht zu bestimmen sein.

Im Zusammenhang mit der umstrittenen Methämoglobinbildung ist deshalb von Interesse, daß es Moeschlin gelang, bei mit Sulfapyridin behandelten Patienten erstmals massenhaft Innenkörper (Heinzsche Körperchen) nachzuweisen, wie sie bei anderen Methämoglobinbildungen durch Amido- und Nitrobenzole vorkommen. Dieser Nachweis von Innenkörpern bildet einen indirekten, aber sicheren Beweis für die Methämoglobinbildung unter dem Einfluß gewisser Sulfanilamid-Derivate. Unter diesen Innenkörpern versteht man kleine, gewöhnlich kugelförmige Gebilde, die an der Peripherie der Erythrocyten liegen und sich mit Vitalfarbstoffen (Brillantkresylblau) intensiv blau färben. Sie sind zuerst von Heinz 1890 („Blaukörner") und dann von Ehrlich und Lindental 1896 beschrieben worden. Ihre Entstehung wurde später von Schilling und seiner Schule eingehend erforscht. Über ihr Wesen ist man sich auch heute noch nicht völlig im klaren. Es steht jedoch fest, daß ein massenhaftes Auftreten derselben in den Erythrocyten immer nur bei Methämoglobinvergiftungen beobachtet wird. Solche Innenkörperanämien wurden bisher besonders für Anilin-, Nitrobenzol- und Phenylhydrazinvergiftungen beschrieben und auch im Tierversuch eingehend erforscht (Istamanowa u. a.). Zahlreiche Autoren (Huber, Friedstein, Schilling, Freifeld, Rohr u. a.; siehe genaue Literaturangabe bei Moeschlin) bestätigen diese Beobachtung.

Durch die bis jetzt gemachten Untersuchungen steht fest, daß die Innenkörper Eiweiß- und eisenhaltige Bestandteile aufweisen und wahrscheinlich ein Degenerationsprodukt des Hämoglobins, nicht aber Methämoglobin selbst darstellen (Suzucki 1912). Sie sind streng zu unterscheiden von Howell-Jolly-Körperchen und basophilpunktierten Erythrocyten, die im Gegensatz zu Innenkörpern auch im Giemsa-Präparat deutlich hervortreten, während die Innenkörper nur mit Vitalfarbstoffen nachzuweisen sind und im normalgefärbten Präparat nicht in Erscheinung treten.

Versuchsergebnisse.

Wie schon eingangs erwähnt, stellten wir uns die Aufgabe, durch Tierversuche die Veränderungen des Blutbildes unter der Einwirkung gewisser Sulfanilamid-Derivate quantitativ und qualitativ genau zu verfolgen. Unsere Untersuchungen berücksichtigen daher in der Hauptsache Erythrocyten, Innenkörper, Reticulocyten und Leukocyten und deren qualitative Verteilung.

I. Versuche mit Kaninchen.

Unsere ersten Untersuchungen machten wir an Kaninchen. Wir konnten aber trotz hoher Dosen von Sulfapyridin, an denen von 4 Tieren 2 eingingen, keine Innenkörperbildung feststellen.

3 Tieren wurde fortlaufend Soldagénan injiziert, einem vierten Dagénantabletten mit der Sonde verfüttert. Zur täglichen Blutentnahme benutzten wir die Vena marginalis des Ohres (Tabelle 1).

Bei Tier 1 und 2 injizierten wir steigende Dosen von Sulfapyridin, angefangen von 0,2—1,6 g über 17 Tage, im ganzen 9 g, und von 1,0 - 1,6 g über 6 Tage, im ganzen 7,8 g. Das Hämoglobin sank dabei nur von 102 auf 96%, und von 99 auf 92%, die Reticulocyten blieben unverändert. Nach 1,6 g = 6,4 g pro kg Körpergewicht wurden die Tiere am nächsten Morgen tot aufgefunden. Die Autopsie ergab makroskopisch eine starke Vergrößerung des Magens, der mit Nahrung angefüllt war. Die Leber war teilweise etwas gräulich verfärbt und die Milz leicht vergrößert. Machella und Higgins haben dieselben Befunde an Ratten erhoben, die nach Behandlung mit Sulfapyridin eingingen.

Tier 3 wurde mit steigenden Dosen 0,5—1,0 g Soldagénan (Sulfapyridin) während 10 Tagen behandelt, im ganzen 7,1 g. Das Hämoglobin blieb dabei konstant und sein Allgemeinzustand gut.

Tier 4 erhielt eine Gesamtdosis von 50 g Sulfapyridin per os. Trotz einem Gewichtsverlust von 320 g blieb es bei gutem Allgemeinzustand. Eine Anämie konnte nicht festgestellt werden. Nach Sistieren der Medikation nahm es rasch an Gewicht zu.

Das Soldagénan hat sich in diesen Versuchen als bedeutend toxischer erwiesen. Man darf aber nach Long und Bliss daraus keine sicheren Schlüsse ziehen, da Ergebnisse im Tierversuch nicht ohne weiteres auf Menschen übertragen werden dürfen. Die geringere toxische Wirkung kann auch darauf beruhen, daß per os verabreichtes Sulfapyridin mangelhafter resorbiert oder eventuell rascher aus dem Körper eliminiert wird als bei parenteraler Verabreichung.

II. Versuche mit weißen Mäusen.

Als Blutentnahmestelle benutzten wir die Schwanzspitze — Kupieren und Entnahme des Blutes durch Ausstreichen. Diese von Klieneberger empfohlene Methode gestattet wiederholte Blutuntersuchungen. Nach Klieneberger sind die Schwankungen von Hämoglobin, Erythrocyten und Leukocyten bei verschiedenen Tieren sehr erheblich. Er betrachtet als Mittelwerte Hämoglobin 94—106%, Erythrocyten 7,8—11,7/Mill., Leukocyten 750 (Infektion) bis 13200. Verteilung der Leukocyten: Lymphoc. gr. 0,5%, Lymphoc. Kl. 88,5%, Polynukleäre Neutrophile 8% und Übergangsformen 3%. Das rote Blutbild ergibt eine leichte Anisocytose und starke Polychromasie.

Unsere Untersuchungen decken sich mit diesen Befunden. Wir konnten aber in keinem Falle Leukocytenwerte unter 5000 beobachten. Unsere Blutuntersuchungen erfolgten täglich zu gleicher Zeit. Die Tiere wurden

Tabelle 1. Versuche mit Kaninchen (Dagénan).

Tier Nr.:	1	2	3	4
Gewicht (g):	2800	2850	2380	2730
1. Tag (vor der Injektion)				
Erythrocyten	7,3	7,3	7,1	10,8
Hämoglobin	102	99	95	110
Leukocyten	11 400	9200	9800	11 900
Reticulocyten	58	43	21	41
Innenkörper	0	0	0	0
Tagesdosis	0,?	1,0	0,5	0,5
2. Tag				
Reticulocyten	43	—	21	—
Innenkörper	0	0	0	0
Hämoglobin	106	—	95	—
Tagesdosis	0,4	1,0	0,5	0,5
3. Tag				
Reticulocyten	55	59	23	38
Innenkörper	0	0	0	0
Hämoglobin	104	98	95	106
Tagesdosis	0,4	1,3	0,8	0,5
4. Tag				
Reticulocyten	80	44	—	41
Innenkörper	0	0	—	0
Hämoglobin	98	99	—	106
Tagesdosis	0,4	1,3	0,8	1
5. Tag				
Reticulocyten	45	35	36	40
Innenkörper	0	0	0	0
Hämoglobin	99	98	94	106
Tagesdosis	0,4	1,6	1,0	1,0
6. Tag				
Reticulocyten	33	30	34	—
Innenkörper	0	0	0	—
Hämoglobin	98	92	94	—
Tagesdosis	0,8	1,6	0,8	1,0
7. Tag				
Reticulocyten	33		—	36
Innenkörper	0		—	—
Hämoglobin	98		—	106
Tagesdosis	0,8		0,8	1,0
8. Tag		6. Tag		
Erythrocyten	7,4	7,3	7,3	9,0
Hämoglobin	—	92	96	104
Leukocyten	11 000	16 300	9600	11 800
Reticulocyten	—	30	34	24
Innenkörper	0	0	0	0
Tagesdosis	0,8	1,6	0,8	1,0
9. Tag				
Reticulocyten	38		36	26
Innenkörper	0		0	0
Hämoglobin	100		96	106
Tagesdosis	0,8		0,6	1,5

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Tier Nr.:	1	2	3	4
Gewicht (g):	2800	2850	2380	2730
10. Tag				
Reticulocyten	35		46	—
Innenkörper	0		0	—
Hämoglobin	98		96	104
Tagesdosis	1,2		0,5	1,5
11. Tag				
Reticulocyten	30			—
Innenkörper	0			0
Hämoglobin	98			104
Tagesdosis	1,2			1,5
12. Tag				
Erythrocyten	6,5			8,1
Hämoglobin	96			104
Leukocyten	11 500			13 500
Reticulocyten	40			39
Innenkörper	0			0
Tagesdosis	1,6			1,5
13. Tag				
Reticulocyten				—
Innenkörper				—
Hämoglobin				—
Tagesdosis				1,5
14. Tag				
Reticulocyten				26
Innenkörper				0
Hämoglobin				102
Tagesdosis				2,0
15. Tag				
Reticulocyten				15
Innenkörper				0
Hämoglobin				102
Tagesdosis				2,0
Tägliche Dosis (per Injektion)	0,2—1,6	1,0—1,6	0,5—1,0	0,5—3,5
Tägliche Dosis (pro kg Körpergewicht)	0,07—0,57	0,33—0,57	0,2—0,4	0,185—1,3
Tage der Behandlung	12	6	10	30
Totale Dosis	9,0	7,8	7,1	50,0

Kaninchen Nr. 4 Tabletten per os

(Dosierung immer in g ausgedrückt.)

mit Getreidekörnern und Milch ernährt, die Verdauungsleukocytose muß bei Mäusen (Kleintieren) nicht in Betracht gezogen werden (Klieneberger).

1. Versuch mit Sulfanilamidopyridin (Dagénan).

Es wurde Soldagénan, verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung, injiziert. Wir konnten bei keinem Tier eine Schädigung des Gewebes an der Injektionsstelle bemerken. Die Tagesdosis schwankte von 0,2—0,5 g

Tabelle 1 (Fortsetzung von Kaninchen Nr. 4).

Tier Nr.:	4
Gewicht (g):	2730
16. Tag	
Reticulocyten	15
Innenkörper	0
Hämoglobin	104
Tagesdosis	2,0
17. Tag	
Reticulocyten	18
Innenkörper	0
Hämoglobin	104
Tagesdosis	2,5
18. Tag	
Reticulocyten	18
Innenkörper	0
Hämoglobin	104
Tagesdosis	3,0
19. Tag	
Reticulocyten	26
Innenkörper	0
Hämoglobin	102
Tagesdosis	3,0
20. Tag	
Erythrocyten	6,5
Leucocyten	10 300
Tagesdosis	3,5
21. Tag	
Reticulocyten	21
Innenkörper	0
Tagesdosis	2,0
22. Tag	
Reticulocyten	16
Innenkörper	0
Hämoglobin	100
Tagesdosis	2,5
23. Tag	
Reticulocyten	—
Hämoglobin	102
Tagesdosis	2,5
24. Tag	
Reticulocyten	28
25. Tag	
Reticulocyten	26
Innenkörper	0
Hämoglobin	102
Tagesdosis	2,5
26. Tag	
Reticulocyten	25
Innenkörper	0
Hämoglobin	100
Tagesdosis	2,0
27. Tag	
Reticulocyten	—
Innenkörper	0
Hämoglobin	—
Tagesdosis	2,0
28. Tag	
Reticulocyten	43
Innenkörper	0
Hämoglobin	96
Tagesdosis	2,0
29. Tag	
Erythrocyten	7,1
Hämoglobin	94
Leukocyten	8200
Reticulocyten	40
Innenkörper	0
Tagesdosis	1,5
30. Tag	
Reticulocyten	36
Innenkörper	0
Hämoglobin	92
Tagesdosis	1,0

pro kg Körpergewicht. Bei Versuchen mit höheren Dosen (0,75, 1,25 und 2,7 g pro kg Körpergewicht) starben die Tiere einige Stunden nach der Injektion. Im ganzen wurden 14 Tiere mit Soldagénan behandelt. Bei 9 Tieren entwickelte sich eine deutliche Innenkörperanämie, bei 2 weiteren Tieren mit einer Dosis von 0,2 g pro kg Körpergewicht traten innerhalb der Erythrocyten wohl deutliche und große Innenkörper auf, wobei aber die Werte nur bis etwa 100 ‰ anstiegen. Die Tiere 5 und 6 starben nach 6 bzw. 4 Tagen. Das Hämoglobin sank bei Tier 5 unter 60 %, die Reticulocyten waren stark vermehrt, während nur ein leichter Anstieg

der Innenkörper festzustellen war. Tier 6 wies keine Anämie, niedere Reticulocytenwerte, aber große Innenkörper auf. Bei einem Tier des Vorversuchs fanden sich keine sicheren Innenkörper.

Einzelne dieser Tiere zeigten im Blutausstrich schon vor der Behandlung vereinzelt innenkörperähnliche Gebilde. Es ist möglich, daß es sich dabei um sogenannte punktierte Reticulocyten (Stad. IV, Heilmeyer) handelt, und nicht um Innenkörper. Da eine sichere Unterscheidung nicht möglich ist, haben wir sie zu Innenkörpern gerechnet. Als beweisend für eine Innenkörperreaktion betrachten wir nur solche Fälle, bei denen es zu einem massiven Ansteigen der Innenkörper kommt und bei denen dieselben im weiteren Verlauf der Behandlung deutlich an Größe zunehmen (Tabelle 2).

Hämatologische Ergebnisse.

Wie aus der vorhergehenden Tabelle ersichtlich ist, treten bei Mäusen gewöhnlich schon am 3. Tag in 100—600‰ aller Erythrocyten deutliche Innenkörper auf (siehe Abb. 1). In den folgenden Tagen nehmen diese an Zahl und Größe zu. Sie liegen meistens peripher innerhalb der Erythrocyten, selten deren zwei, die dann stellenweise hantelförmig aneinandergelagert zu sein scheinen. Wir fanden auch bei einigen Mäuseblutausstrichen, im Gegensatz zu den Verhältnissen beim Menschen, die Innenkörper mehr gegen das Zentrum der Erythrocyten gelagert. Die Untersuchung im hängenden Tropfen zeigte aber, daß sie doch in der Randzone der scheibenförmigen Erythrocyten liegen und diese etwas vorbuchten. Sphärocytose konnten wir nie feststellen. Alle unsere Versuchstiere zeigten eine leichte bis schwere Anämie. Die Kontrolltiere, die infolge der täglichen Blutentnahme leicht anämisch wurden, wiesen keinen so hohen Anstieg der Reticulocyten auf.

Wir haben 4 Tiere 14, 12, 8 und 6 Tage nach Sistierung der Medikation fortlaufend kontrolliert. Wir konnten in allen vier Fällen beobachten, daß die Hämoglobinwerte nachher noch weiter absanken, und zwar von 79 auf 62, 83 auf 68, von 87 auf 66 und von 73 auf 49%, während die Innenkörperwerte und die Reticulocytenzahl langsam abnahmen. Die Erythrocytenwerte gingen während der Behandlung deutlich zurück, und zwar von einer Schwankungsbreite von 7,2—11,9 auf 5,8—8,5 (in einem Falle 9,8), was sich mit den Befunden von anderen Autoren (Machella und Higgins) deckt.

Im roten Blutbild findet man normalerweise bei Mäusen eine leichte Anisocytose und Polychromasie. Nach der Behandlung war die Anisocytose ausgesprochener, die polychromatischen Zellen von 2—4 auf 19—27 in einem Gesichtsfeld gestiegen. Vereinzelt konnten wir auch Normoblasten und eine leichte Makro- und Mikrocytose feststellen. Da sich aber auch bei den Versuchstieren infolge der täglichen Blutentnahme dieselben Befunde erheben ließen, so dürfen wir diese Veränderungen nur auf die Blutungsanämie zurückführen und nicht der Medikation zuschreiben.

Tabelle 2. Versuche mit weißen Mäusen (Dagénan).

Tier Nr.:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	K
Gewicht (g):	26	24	24	25	26	21	19	18	17	25	25	20
1. Tag (vor der Injektion)												
Erythrocyten	9,5	9,4	9,7	11,3	10,5	9,3	11,9	9,7	7,9	8,8	7,2	9,6
Hämoglobin	105	108	104	113	130	101	115	108	112	130	121	93
Leucocyten	5500	5200	13 500	11 400	11 200	7000	9100	6100	11 400	14 800	10 800	6500
Reticulocyten	5	45	56	74	60	50	--	51	36	29	49	40
Innenkörper	7	89?	37?	26?	1	0	—	2	2	3	13	3
2. Tag												
Reticulocyten	2	28	13	30	47	90	81	54	34	—	70	65
Innenkörper	32	59	46	60	6	7	8	6	9	—	24	2
3. Tag												
Reticulocyten	8	26	18	52	82	81	40	14	36	—	—	51
Innenkörper	128	85	45	121	21	6	12	16	35	—	—	26
4. Tag												
Reticulocyten	2	30	38	22	62	114	49	53	25	—	37	90
Innenkörper	669	182	195	177	19	14	143	42	73	-	18	5
Hämoglobin	79	73	89	86	63	68	110	98	92	—	—	80
5. Tag												
Reticulocyten	82	39	96	87	208	120		72	72	44	99	68
Innenkörper	496	317	211	355	44	10		102	283	23	52	9
6. Tag												
Reticulocyten	31	155	137	72	295	299		109	37	—	—	52
Innenkörper	423	336	402	314	46	31		127	292	—	—	22
7. Tag												
Reticulocyten	161	16	98	102	185			—	32	—	21	147
Innenkörper	513	308	230	353	67			—	430	—	41	7
8. Tag												
Reticulocyten	230	94	114	112				161	74	—	—	85
Innenkörper	365	395	480	417				73	114?	—	—	28
9. Tag					7. Tag:	6. Tag:						
Erythrocyten	8,1	9,8	8,5	8,6	7,1	6,3		8,6	6,8	—	—	8,3
Hämoglobin	71	87	75	83	54	55		87	73	—	—	70
Leucocyten	8700	12 600	13 200	7500	12 400	9100		5900	10 200	-	-	10 500
Reticulocyten	145	68	52	93	185	299		144	40	—	—	56
Innenkörper	371	350	396	364	67	31		114	257	—	—	16

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Tier Nr.:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	K
Gewicht (g):	26	24	24	25	26	21	19	18	17	25	25	20
10. Tag												
Reticulocyten	8			55				73	73	—	—	88
Innenkörper	417			309				72	327	-	—	7
11. Tag												
Reticulocyten	14			—				75	64	28	—	111
Innenkörper	207			—				66	195	94	—	10
12. Tag												
Reticulocyten	—			—				112	34	59	—	—
Innenkörper	—			—				51	155	48	—	—
13. Tag												
Reticulocyten	—			—				129	136		45	174
Innenkörper	—			—				54	150		103	11
14. Tag												
Reticulocyten	—			—				84	157		—	
Innenkörper	—			—				92	173		—	
15. Tag												
Reticulocyten	16			43				96	91		71	
Innenkörper	129			228				89	165		88	
16. Tag												13. Tag
Reticulocyten	9			99				98	67		65	174
Innenkörper	117			152				40	125		65	11
Erythrocyten	—			—				8,0	5,8		6,8	9,2
Hämoglobin	—			—				66	49		68	61
Leucocyten	—			—				12 500	13 600		9700	14 700
17. Tag												
Reticulocyten	5			77							22	
Innenkörper	106			78							53	
18. Tag												
Reticulocyten	38			59							88	
Innenkörper	64			65							60	
Hämoglobin	62			68							62	
Tägliche Dosis (g)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,0075	0,0075	0,0075	0,0075	0,0075	0,005	0,005	
Tägl. Dos. pro kg Körpergewicht	0,384	0,41	0,41	0,4	0,28	0,35	0,39	0,041	0,46	0,2	0,2	
Zahl der Injektionstage	1—4	1—8	1—8	1—8	1—7	1—6	1—3	1—8	1—8	1—12	1—13	

Wir konnten in allen Erythrocytenformen das Auftreten von Innenkörpern feststellen. Eine Bevorzugung bestimmter Kategorien der roten Blutzellen ließ sich nicht nachweisen. So zeigten sowohl die sich mit Brillantkresylblau dunkelfärbenden Erythrocyten als auch die heller gefärbten, wahrscheinlich älteren Formen zu gleichen Teilen Innenkörper. Auch auf die verschiedenen Größenformen der Erythrocyten ergab sich

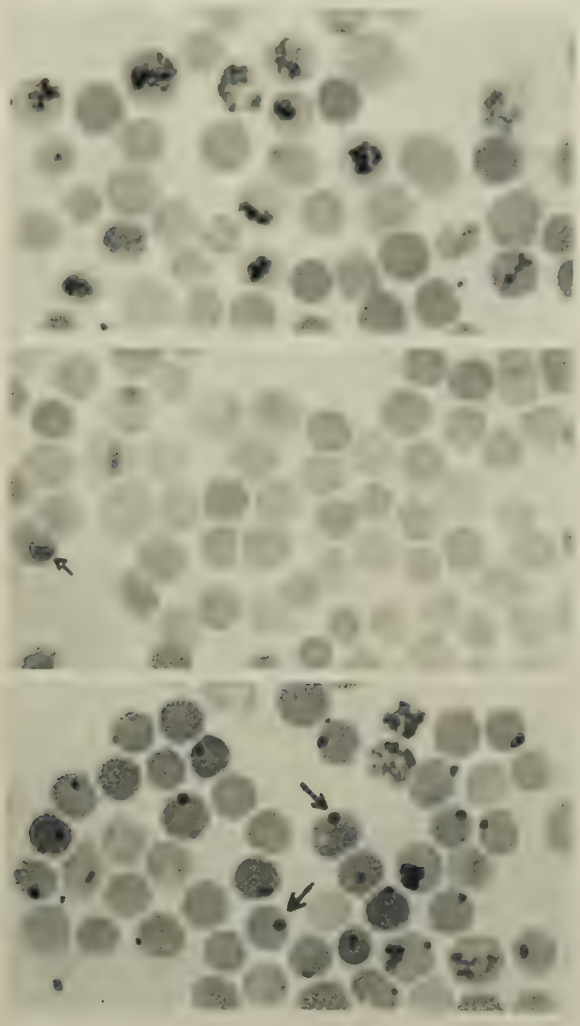


Abb. 1.

Gegenüberstellung des roten Blutbildes (Vitalfärbung Brilliantkresylblau) nach Sulfapyridin- und Sulfathiazolbehandlung: Mitte: Blutausstrich von Maus 1 vor der Behandlung (Tabelle 2). Unten: Blutausstrich von Maus 1 am 4. Tag nach 3 × 0,01 g Sulfapyridin (Dagénan) = 0,384 g pro kg Körpergewicht s.c. Hier tritt die Innenkörperreaktion deutlich zutage. Oben: Blutausstrich von Maus 4 (Tabelle 4) nach 12 × 0,03 g Sulfathiazol (Cibazol) = 1,25 g pro kg Körpergewicht. Keine Innenkörperreaktion, aber Vermehrung der Reticulocyten. (Vergrößerung 1 : 1000).

eine annähernd gleichmäßige Verteilung. Die Thrombocytenwerte blieben, soweit sich dies nach den Ausstrichen ohne Zählung beurteilen läßt annähernd konstant.

Die Leukocyten weisen qualitativ und quantitativ keine wesentlichen Veränderungen auf. Vor der Behandlung variierten unsere Werte zwischen 5200 und 14800, während wir nach der Behandlung Leukocytenzahlen von 7500 –13500 erheben konnten. Über den Ablauf des weißen Blutbildes gibt Tabelle 3 Auskunft.

Tabelle 3. Versuche mit weißen Mäusen (Dagénan). Weißes Blutbild.

Tier Nr.:	1			2		3	
Tage der Behandlung:	1.	4.	10.	1.	9.	1.	9.
Leukocyten	5500		8700	5200	12 900	13 500	13 200
Differenzierung:							
Neutrophile Stabkerne	6,5	8,5	6	32,5	11,5	8,5	11
Neutrophile Segmentkerne	30,5	27,5	15,5	18	8,5	13,5	26,5
Eosinophile	2	1	3	4,5	1	1	2
Basophile	0	0	0	0	0	0	0
Monocyten	2	2	0,5	0	0,5	0	0
Lymphocyten	59	60,5	75	45	78,5	77	60,5
Plasmazellen	0	0,5	0	0	0	0	0

Tier Nr.:	4		5		6		7	
Tage der Behandlung:	1.	9.	1.	7.	1.	6.	1.	3.
Leukocyten	11400	7500	11200	12400	7000	9100	9100	9100
Differenzierung:								
Neutrophile Stabkerne	4	4	7,5	9,5	4	1,5	3,5	1
Neutrophile Segmentkerne	4	19,5	13,5	15	10,5	2	14	10,5
Eosinophile	3	0	4	9,5	0	2	2,5	3
Basophile	0	0	0	0	0	0	0	0
Monocyten	0	0,5	2	3	0	6	1,5	1
Lymphocyten	89	76	73	63	85,5	88,5	78,5	84,5
Plasmazellen	0	0	0	0	0	0	0	0

Tier Nr.:	8			9			K	
Tage der Behandlung:	1.	9.	15.	1.	9.	15.	1.	13.
Leukocyten	6100	5900	12500	11400	12 200	13 600	6500	14 700
Differenzierung:								
Neutrophile Stabkerne	4	2,5	4	7	6	4,5	2,5	1,5
Neutrophile Segmentkerne	11	3,5	8	14,5	16	7,5	17,5	7
Eosinophile	5	1	2	2,5	1,5	1,5	6	3
Basophile	0	0	0	0,5	0	0	0	0
Monocyten	0,5	0,5	2,5	4	3	3	3,5	1
Lymphocyten	79	92,5	83,5	71,5	72	83,5	70	87,5
Plasmazellen	0,5	0	0	0	1,5	0	0,5	0

Milz:

a) Ausstrich von Tier 2 und 3. Besonders auffallend ist die starke Erythropoese, die durch die große Zahl von Erythroblasten und die zahlreichen Mitosen besonders deutlich hervortritt. In zweiter Linie imponieren die großen und zahlreichen Makrophagen mit pigmentierten Kernen, Einschlüssen von Erythrocytenfragmenten und grün-bläulich kristalloiden Gebilden — wahrscheinlich Hämo-

siderin. Die Berlinerblau-Reaktion ist stark positiv. Neben mäßig vielen ziemlich stark segmentierten Neutrophilen finden wir viele Lymphocyten und junge große plasmazelluläre Reticulumzellen mit wabiger Plasmastruktur, ferner spärlich Myelocyten und vereinzelt Megakaryocyten und Gewebsmastzellen.

b) Histologisch: In der Milz sind zahlreiche Lymphfollikel mit gut erhaltenen Keimzentren sichtbar. Die Pulpa ist sehr zellreich. Neben einzelnen Megakaryocyten finden sich sehr zahlreiche Erythroblasten, weniger Myeloblasten und Myelocyten. Zahlreiche Mitosen. In der Randzone von zahlreichen größeren Zellen beobachtet man grobscholliges braunes Pigment, das eine positive Berlinerblau-Reaktion ergibt (Hämosiderin). Neben diesem eisenhaltigen Pigment befindet sich noch reichlich braunes Pigment ohne Berlinerblau-Reaktion.

Leber:

a) Ausstrich. Hier finden wir wenig Erythroblasten, selten Mitosen und wenig Lymphocyten. Es fallen besonders Leberzellen auf mit großen nukleolenreichen Kernen, daneben wahrscheinlich reticuloendotheliale Zellen mit merkwürdig bizarr gelappten großen Kernen, die sich deutlich von Neutrophilen unterscheiden.

b) Histologisch. Die Leber zeigt einen normalen Aufbau. Die Glissonschen Scheiden sind sehr schmal. Die Leberzellen weisen einen großen pyknotischen Kern und beginnenden Zerfall des Chromatins auf, doch keine herdförmigen Nekrosen, keine Blutbildungsherde. Die Kupfferschen Sternzellen sind auffallend groß, ganz vereinzelt mit braunem, eine positive Berlinerblau-Reaktion ergebendem Pigment beladen. Keine Zellinfiltrate.

Knochenmark:

Ausstrich. Das Knochenmark ist vorwiegend myelocytär, vor allem sind viele ringförmige stabkernige und zahlreiche eosinophile Myelocyten zu unterscheiden. Auch hier vereinzelt Makrophagen mit Kernfragmenteinschlüssen. Die vermehrte Erythropoese tritt auch hier zutage. Wir finden mäßig viele Erythroblasten, die aber hier im Vergleich zur Milz quantitativ zurücktreten (schätzungsweise 20%).

2. Versuche mit Sulfathiazol (Ciba 3714 oder Cibazol).

Im ganzen wurden 6 Tiere mit Sulfathiazol behandelt, und zwar per injectionem. Die Tagesdosis schwankte von 0,41—1,25 g pro kg Körpergewicht (Sulfapyridin 0,2—0,5 g pro kg Körpergewicht). Alle 6 Tiere blieben am Leben. Obschon die verabreichte Tagesdosis und die Gesamtmenge zum Teil die der Sulfapyridinfälle um das Vielfache übertraf, konnten wir in keinem einzigen Fall eine Zunahme der „Innenkörper" feststellen. Die Tiere zeigten am Schluß der Behandlung eine Anämie und eine Reticulocytenvermehrung, die derjenigen der Sulfapyridintiere gleichkommt. Ein Tier zeigte eine schwerere Anämie. Es darf aber dieser vereinzelte Abfall des Hämoglobins nicht der Medikation zugeschrieben werden, auch unter den Kontrolltieren trat bei einer Maus, die in der Tabelle nicht aufgeführt ist, ein stärkerer Hämoglobinabfall auf (Tabelle 4).

Die Erythrocyten, die vor der Behandlung Werte von 9,0—16,0 erreichten, zeigen eine deutliche Verminderung auf Schlußwerte von 6,7 (2,3) bis 9,0. Das rote Blutbild zeigt dieselbe leichte Veränderung, wie die Sulfapyridintiere, vor allem steht auch da die Polychromasie im Vordergrund (Tabelle 5).

Tabelle 4. Versuche mit weißen Mäusen (Ciba 3714 = Cibazol).

Tier Nr.:	1	2	3	4	5	6	K
Gewicht (g):	16	18	16	24	24	24	23
1. Tag (vor der Injektion)							
Erythrocyten	10,5	9,0	9,0	10,5	13,2	10,8	16,80
Hämoglobin	106	94	102	106	116	109	115
Leucocyten	16 000	8200	6100	6400	15 400	18 400	19 400
Reticulocyten	53	45	49	64	15	12	74
Innenkörper	6	9	7	4	38?	34?	27?
2. Tag							
Reticulocyten	64	89	75	64	68	51	20
Innenkörper	6	2	5	3	56	65	6
3. Tag							
Reticulocyten	62	141	88	124	35	19	27
Innenkörper	10	6	65	5	12	26	19
4. Tag							
Reticulocyten	83	116	108	214	180	67	18
Innenkörper	12	7	6	4	6	74	12
5. Tag							
Reticulocyten	84	75	209	278	171	93	62
Innenkörper	7	3	8	1	5	23	8
Hämoglobin	72	76	76	78	54	75	92
6. Tag							
7. Tag							
Reticulocyten	84	40	179	117	241	189	59
Innenkörper	15	9	10	7	7	23	21
8. Tag							
Erythrocyten	7,6	7,1	7,9	7,6	2,3	9,0	9,5
Hämoglobin	72	57	76	66	40	75	94
Leucocyten	18 500	16 200	7000	12 700	6400	15 100	12 300
Reticulocyten	92	63	97	77	210	225	94
Innenkörper	2	12	9	7	11	21	5
9. Tag							
Reticulocyten	128	103	218	194			
Innenkörper	15	4	2	2			
10. Tag							
Reticulocyten	126	129	145	154			
Innenkörper	12	17	12	6			
11. Tag							
Reticulocyten	127	113	117	144			
Innenkörper	17	20	16	11			
12. Tag							
Reticulocyten	158	98	103	208			
Innenkörper	2	4	6	11			
13. Tag							
Erythrocyten	8,2	6,7	8,2	7,2			
Hämoglobin	75	68	70	63			
Leucocyten	26 500	17 800	7600	7900			
Reticulocyten	234	166	169	—			
Innenkörper	13	3	5				
Tägliche Dosis (g)	0,0075	0,0075	0,015	0,03	0,01	0,01	
Tägl. Dos. pro kg Körpergewicht	0,468	0,416	0,936	1,25	0,41	0,41	
Zahl der Injektionstage	1—13	1—13	1—14	1—12	1—7	1—7	
Totale Dosis (g)	0,098	0,098	0,21!	0,36!	0,07	0,07	

Tabelle 5. Versuche mit weißen Mäusen (Ciba 3714 = Cibazol). Weißes Blutbild.

Tier Nr.:	1		2		3		4	
Tage der Behandlung:	1.	11.	1.	11.	1.	11.	1.	11.
Leukocyten	16 000	26 500	8200	17 800	6100	7600	6400	7900
Differenzierung:								
Neutrophile Stabkerne	3,5	2,5	2	2	7	7,5	6	8
Neutrophile Segmentkerne	15,5	10	13,0	8	14,5	6,5	11,5	8,5
Eosinophile	2	1	0,5	1,5	2	3	3	2
Basophile	0	0	0	0	0	0	0	0
Monocyten	0	1,5	2	2	0	3	0	0,5
Lymphocyten	79	85	82,5	86,5	76,5	80	79,5	81
Plasmazellen	0	0	0	0	0	0	0	0

Tier Nr.:	5		6		K	
Tage der Behandlung:	1.	8.	1.	8.	1.	9.
Leukocyten	15 400	6400	18 400	15 100	19 400	12 300
Differenzierung:						
Neutrophile Stabkerne	5,5	6,0	14	4,5	3,5	1,5
Neutrophile Segmentkerne	16	7,5	11	9	6	9
Eosinophile	1	2	5	0,5	1	4
Basophile	0	0	0	0	0	0
Monocyten	1	0	0,5	0,5	1,5	0
Lymphocyten	76,5	84,5	69	85,5	88	85,5
Plasmazellen	0	0	0,5	0	0	0

Das weiße Blutbild blieb qualitativ und quantitativ im wesentlichen unbeeinflußt.

Milz:

a) Ausstrich. Hier treten im Gegensatz zu den Sulfapyridintieren die Erythroblasten zahlenmäßig zurück. Mitosen können wir nicht auffinden.

b) Histologisch. Tier 5. In dieser Milz zeigen sich sehr schwere Veränderungen: zahlreiche nekrotische Bereiche. Lymphfollikel vollkommen nekrotisch, daneben aber auch herdförmige Nekrosen im Bereiche der Pulpa. Es finden sich sehr zahlreich mit reichlich braunem Pigment beladene Zellen, die größtenteils eine starke Berlinerblau-Reaktion ergeben. Im übrigen sind sehr viele Erythroblasten vorhanden, wenig Lymphocyten und andere myeloische Zellen.

Leber:

a) Ausstrich. Die Leberausstriche unterschieden sich nicht von denen der Sulfapyridintiere. Besonders auffallend hier große pyknotische Kerne der Leberzellen.

b) Histologisch: In den Leberzellen häufig pyknotische Kerne mit beginnendem Zerfall und scholligem Chromatin. Das Zellplasma dieser Zellen ist ganz schollig. In den Glissonschen Scheiden kleine Rundzelleninfiltrate, wahrscheinlich Lymphocyten und einzelne Leukocyten, die nicht sicher zu differenzieren sind. Wenig pigmenthaltige Zellen. Kupffersche Sternzellen groß, keine positive Berlinerblau-Reaktion.

Unsere histologischen Befunde, die sich nur auf einzelne Tiere erstrecken, liefern noch keinen Beweis, daß es im Tierversuch unter der Medikation mit Sulfathiazol zu nekrotischen Veränderungen in der Milz

kommt. Die diesbezüglichen Untersuchungen müßten eine große Anzahl mit Sulfathiazol behandelter Tiere umfassen. Immerhin haben auch Rake und Mitarbeiter bei einer großen Anzahl mit Sulfapyridin und Sulfathiazol behandelter Tiere (sehr hohe Dosen und täglicher Verfütterung über 4 Wochen) ähnliche Veränderungen in Leber und Milz festgestellt, und zwar waren die Veränderungen in der Milz ausgesprochener bei den Sulfathiazoltieren.

Zusammenfassung.

Klinische Beobachtungen und Tierexperimente haben gezeigt, daß einige Sulfanilamid-Derivate Cyanose, Anämie, Verminderung der Erythrocyten, Zunahme der Reticulocyten, Met- und Sulfhämoglobinbildung (Innenkörperanämien) zur Folge haben können. Die Met- und Sulfhämoglobinbildung wurde in mehreren Fällen der Literatur spektroskopisch nachgewiesen. Ein indirekter morphologischer Beweis der Methämoglobinbildung wurde erstmals von Moeschlin 1940 erbracht, indem er in den Erythrocyten das Auftreten von Innenkörpern nachwies. Wir haben damit ein sehr empfindliches Indizium für das Auftreten sehr kleiner Methämoglobinmengen vor uns, das uns gestattet, die Sulfanilamid-Derivate in dieser Beziehung näher zu untersuchen.

Unsere Untersuchungen an Kaninchen und Mäusen auf die Bildung von Innenkörpern nach Sulfanilamidopyridin (Dagénan) und Sulfanilamidothiazol (Ciba 3714 oder Cibazol) ergaben im wesentlichen folgende Befunde:

1. Nach Sulfapyridinbehandlung bei Kaninchen — Dosis per inj. 0,2—1,6 g, per os 0,5—3,5 g pro kg Körpergewicht — und längerer Verabreichung, kommt es zu keiner Innenkörperbildung in den Erythrocyten. Ein Hämoglobinabfall und eine leichte Verminderung der Erythrocyten können wir nur in einem Falle beobachten.

2. Nach Sulfapyridinbehandlung (Dagénan) bei Mäusen — Dosis per i. j. 0,2—0,5 g pro kg Körpergewicht — tritt Innenkörperbildung auf, und zwar in bis zu 600‰ der Erythrocyten. Die Reticulocytenvermehrung und die Anämie übertreffen diejenige der Kontrolltiere, die auch täglichen Blutentnahmen unterzogen werden. Die Erythrocyten zeigen eine deutliche Verminderung, während das weiße Blutbild qualitativ und quantitativ und die Thrombocyten im wesentlichen nicht beeinflußt werden. Die Zunahme der Anisocytose und der Polychromasie ist auch bei den Kontrolltieren nachzuweisen. Das Absinken des Hämoglobins und der Erythrocyten hält auch nach dem Absetzen des Medikamentes noch längere Zeit an, was auf den Untergang der innenkörperhaltigen Erythrocyten und nicht auf eine Hemmung des erythropoetischen Knochenmarkes zurückzuführen ist.

3. Gleichsinnige Untersuchungen mit Sulfathiazol (Ciba 3714 oder Cibazol) an Mäusen ergeben trotz viel höherer Dosierung (0,4—1,25 g per inj. pro kg Körpergewicht) und längerer Verabreichung keine Innen-

körperreaktionen. Die übrigen Befunde des roten und weißen Blutbildes, sowie der Thrombocyten decken sich im wesentlichen mit den obenerwähnten Resultaten der Sulfapyridintiere.

4. Die gesteigerte Hämolyse nach Sulfapyridinbehandlung zeigt sich besonders eindrucksvoll in der Milz. Es lassen sich in den Abstrichen, infolge Erythrocytenuntergang, zahlreiche Makrophagen mit reichlich eisenhaltigem Pigment und daneben sehr zahlreiche Erythroblasten und Erythroblastenmitosen feststellen. Auch im histologischen Präparat fallen besonders die häufigen Mitosen und die im Vergleich zu den Kontrolltieren vielen Erythroblasten auf, ferner die Makrophagen mit Einlagerungen von braunem Pigment, die eine stark positive Berlinerblau-Reaktion ergeben.

5. In der Milz der Sulfathiazoltiere ist im Ausstrich nur eine mäßige Erythropoese wahrzunehmen. Es finden sich weniger Makrophagen mit eisenhaltigem Pigment. Die histologischen Präparate zeigen hingegen bei einem der Tiere schwere Veränderungen, in Form von nekrotischen Lymphfollikeln und herdförmigen Nekrosen im Bereiche der Pulpa. Da es sich um einen Einzelfall handelt, dürfen daraus noch keine Schlüsse gezogen werden. Immerhin sind analoge Veränderungen der Milz nach Sulfathiazolbehandlung an Mäusen und Ratten schon beschrieben worden.

6. Die Leber der Sulfapyridintiere zeigt außer großen pyknotischen Kernen der Leberzellen mit beginnendem Zerfall des Chromatins keine wesentlichen Veränderungen. Keine Blutbildungsherde. Die Kupfferschen Sternzellen enthalten reichlich eisenhaltiges Pigment.

Die Befunde der Leber nach Sulfathiazol decken sich annähernd mit den Befunden nach Sulfapyridinbehandlung, es sind jedoch wenig Pigmentablagerungen sichtbar und sie ergeben keine Berlinerblau-Reaktion.

7. Im Knochenmark tritt bei den Sulfapyridintieren auch die vermehrte Erythropoese zutage, doch weniger ausgesprochen als in der Milz, und die Unterschiede mit den Sulfathiazol- und Kontrolltieren sind weniger ausgeprägt.

Das wichtigste Ergebnis dieser Untersuchungen ist der Beweis dafür, daß die toxische Schädigung des Sulfathiazols (Ciba 3714 oder Cibazol) auf die Erythrocyten viel geringer ist als diejenige des Sulfapyridins (Dagénan), da es im Tierversuch keine Innenkörperanämien hervorruft, was mit klinischen Beobachtungen beim Menschen (Moeschlin) übereinstimmt. Dieses Fehlen von Innenkörpern dürfte in einer viel geringeren Methämoglobinbildung zu suchen sein und darauf hindeuten, daß bei einer Medikation mit Sulfathiazol, die bei der Sulfapyridinbehandlung eventuell auftretende Nebenerscheinung von schweren hämolytischen Anämien vermieden werden kann.

Es bleibt aber noch abzuwarten, ob auf Grund dieser Beobachtungen allgemein die Verwendung des Sulfathiazols dem Sulfapyridin vorzuziehen ist. Klinische Erfahrungen zeigen (Löffler), daß das Sulfapyridin in

gewissen Fällen eine stärkere bakterizide Wirkung entfaltet als das Sulfathiazol, und so wird vielleicht das Sulfapyridin auch in Zukunft bei gewissen Infektionen den Vorzug behalten. Wahrscheinlich gelingt es der chemischen Forschung aber noch, ein neues Sulfanilamid-Derivat zu finden, das die Vorteile beider in sich vereinigt, ohne eine toxische Wirkung auf die Erythrocyten auszuüben.

Literatur

Archer, H. E., u. G. Discombe: Lancet II, 432 (1937). — Britton, C. J. C., u. J. Hawkins: Lancet II, 718 (1939). — Bigler, J. A., W. M. Clifton u. M. Werner: J. amer. med. Assoc. **110**, 343 (1958). — Campbell, C. M.: Lancet I, 247 (1938). — Colebrook, L., u. M. Kenny: Lancet I, 1279 (1936). — Colebrook, L., u. M. Kenny: Lancet II, 1319 (1936). — Domagk, G.: Dtsch. med. Wschr. **61**, 250 (1935). — Domagk, G.: Angew. Chemie **48**, 657 (1935). — Domagk, G., u. Hegler: Chemotherapie bakterieller Infektionen, Berlin 1940. — Discombe, G.: Lancet I, 626 (1957). — Foerster: Z. Haut- u. Geschl.Kr. **45**, 549 (1933). — Fuller: Mündlicher Bericht an Colebrook u. Kenny. — Frost, L. B. D.: Lancet I, 510 (1939). — Grütz, O.: Z. Haut- u. Geschl.Kr. **49**, 300 (1934). — Grütz, O.: Med. Klin. **30**, 52 (1934). — Gsell, O.: Schweiz. med. Wschr. **16**, 342 (1940). — Hagemann, P. O., u. F. G. Blake: J. amer. med. Assoc. **109**, 642 (1957). — Hagemann, P. O., u. F. G. Blake: J. amer. med. Sc. **195**, 163 (1938). — Hagemann, P. O.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **37**, 119 (1957). — Hegglin, R.: Schweiz. med. Wschr. **37**, 881 (1940). — Harvey, H. M., u. C. A. Janeway: J. amer. med. Assoc. **109**, 12 (1937). — Hartmann, zitiert nach Wendell. — Heubner: Dtsch. klin. Wschr. **19**, 265 u. 289 (1940). — Jennings, G. H., u. G. Southwell-Sander: Lancet II, 898 (1937). — Istamanowa, T. S.: Z. exper. Med. **52**, 140 (1926). — Klee, P., u. H. Römer: Dtsch. med. Wschr. **61**, 253 (1935). — Kreuzmann, W. B., u. J. L. Carr: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **38**, 19 (1938); zitiert nach Long u. Bliss. — Kohn, S. E.: J. amer. med. Assoc. **109**, 1005 (1937). — Klieneberger, C.: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere, Verlag Leipzig (1937). — Long, P. H., u. B. A. Bliss: The Clinical and Experimental Use of Sulfanilamide, Sulfapyridine and Allied Compounds. The Macmillan Company, New York (1939). — Löffler, W., R. Hegglin u. C. Maier: Helvet. med. Acta **6**, 558 (1939). — Löffler, W., u. C. Maier: Schweiz. med. Wschr. **50**, 1258 (1939). — Miescher, G.: Ebenda **37**, 891 (1940). — Marshall, Jr., E. K., K. J. Emerson, W. C. Cutting u. D. Babbit: J. amer. med. Assoc. **108**, 953 (1937). — Marshall, Jr., E. K., K. J. Emerson u. W. C. Cutting: Ebenda **109**, 1314 (1937). — Marshall, Jr., E. K., K. J. Emerson u. W. C. Cutting: Ebenda **110**, 252 (1938). — Marshall, Jr., E. K., u. E. M. Walzl: Bull. J. Hopkins Hosp. **61**, 140 (1937). — Marshall, Jr., E. K., u. W. C. Cutting: Ebenda **63**, 318 (1938). — Molitor, H., u. H. Robinson.: J. Pharmacol. (Am.) **63**, 405 (1939). — Machella, Th. E., u. C. M. Higgins: Amer. J. med. Sci. **198**, 804 (1939). — Moeschlin, S.: Schweiz. med. Wschr. **33**, 786 (1940). — Moeschlin, S.: Folia Haemat. (1941). — Moeschlin, S., u. H. Hurschler: Schweiz. med. Wschr. **41**, 972 (1940). — Nelson, U. S.: Health. Report **54**, 104 (1939); zitiert nach Domagk u. Hegler. — Paton, J. P., u. J. C. Eaton: Lancet I. 1159 (1937). — Rimington, C.: Lancet I, 770 (1938). — Richardson, A. P.: J. Pharmacol. (Am.) **67**, 429 (1939). — Rohr, K.: Helvet. med. Acta **6**, 611 (1939). — Rake, G., H. B. van Dyke u. W. C. Corvin: Amer. J. med. Sci. **822**, 353 (1940). — Schreus, T. H.: Dtsch. med. Wschr. **61**, 255 (1935). — Suzucki, N.: Folia Haemat. **3**, 16 (1912). — Veil, W. H.: Ther. Gegenw. **75**, 212 (1934). — Wien, R.: Quart. J. Pharmacy a. Pharmacol. **11**, 217 (1938); zitiert nach Long u. Bliss. — Wood. Jr., W. B.: J. amer. med. Assoc. **11**, 1916 (1938). — Wuhrmann, F., u. E. Undritz: Schweiz. med. Wschr. **4**, 69 (1940). — Wendell, W. R.: J. amer. med. Assoc. **109**, 1216 (1957).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Eine Methode der biologischen Auswertung von Coffein.

Von

W. Straub und D. N. Kesarbani.

Mit 7 Textabbildungen (11 Einzelbildern).

(Eingegangen am 13. März 1941.)

Die biologischen Meßmethoden, also die Messungen, deren Indikator eine pharmakologische Wirkung ist, sind dann unentbehrlich, wenn, wie im Falle Digitalis, eine chemische Messung überhaupt unmöglich ist. Wenn aber chemische und biologische Messungen nebeneinander bestehen, wird man immer der chemischen Methode den Vorzug geben, weil sie mit größerer Zuverlässigkeit arbeitet. Im Falle Coffein sind ausreichende chemische Methoden vorhanden. Sie sind, wenn sie quantitativ sein sollen, sehr zeitraubend, erfassen aber das Coffein aus größter Verdünnung. So wird wohl die Nahrungsmittelchemie kein Interesse an einer biologischen Coffeinbestimmung haben, weil sie das Ausgangsmaterial in beliebigen Mengen zur Verfügung hat. Die forensische Chemie hat auch kein Interesse, weil das Coffein bekanntlich kein Gift ist; bleibt also die Pharmakologie und Pharmazie. Hier handelt es sich unter Umständen um den Nachweis kleinster absoluter Mengen, die auf chemischem Wege höchstens durch eine raffinierte Mikroanalyse zu ermitteln sind. Die Reinabscheidung des Coffeins ist hier der springende Punkt, während sich die biologische Messung um eine letzte Reinheit nicht zu kümmern braucht. Das lebende Testobjekt sucht sich von selbst die wirksamen Substanzen aus und reagiert nur mit ihnen. Die bei der chemischen Verarbeitung so unangenehmen unwirksamen Beistoffe können bei der biologischen ruhig mitlaufen.

Von den vielen Wirkungen des Coffeins wählten wir die am einfachsten erzielbare und am leichtesten beherrschbare, die Kontrakturwirkung am Skeletmuskel des Frosches. Diese Kontrakturwirkung ist zuletzt eingehend mit guter Methodik von J. A. Secher[1] studiert worden. Die Wirkung besteht darin, daß der Skeletmuskel des Frosches, der auf irgendeine Weise mit Coffein in Berührung kommt, eine Art Gerinnung erleidet, opak bis weiß wird, und in eine tonische Verkürzung gerät, eine Verkürzung von der, wie wir feststellten, maximalen Höhe des durch Faradisierung erreichten Tetanus des Normalzustandes, also um etwa 30% seiner natürlichen Ruhelage. Die methodische Verbesserung durch J. A. Secher, l. c., bestand darin, daß er das Coffein auf dem Blutwege

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **77**, 83 (1914).

beibrachte, indem er den Frosch von der Aorta aus mit einer Coffeinlösung durchströmte, unter der stillschweigenden Voraussetzung allerdings, daß es sich bei der Coffeinwirkung um einen reinen Konzentrationswirkungsmechanismus handelt und daß nicht etwa irgend welche Adsorptionsvorgänge, die die Konzentration ändern könnten, eine Rolle spielten. J. A. Secher fand, daß die Veränderungen des Muskels direkt sichtbar sind, in höheren Graden, wie gesagt, als eine Art Gerinnung und Schrumpfung des Faserinhaltes. Die Grenzkonzentration des Coffeins, die die maximale Wirkung macht, liegt nach ihm bei 1 : 2000. Eine Perfusion mit einer höheren Konzentration, wie etwa 1 : 1000 ist nicht mehr möglich, weil hier durch Schrumpfung der Muskeln die Gefäße abgedrosselt werden, und der Durchfluß der Coffeinlösung stockt. Eine mäßige Veränderung des Faserinhaltes soll man mikroskopisch noch bei 1 : 10000 sehen, während die sichtbare Schrumpfung und Fältelung der Sarkolemm-Membran noch bei 1 : 30000 gut bemerkbar sein soll. Demnach scheint die Zellmembran beim Muskel — vielleicht auch bei anderen coffeinempfindlichen Organen — der empfindlichste Teil des Organs zu sein, der vielleicht am stärksten von Coffein getroffen wird.

Membranen können bekanntlich der Sitz elektromotorischer Kraft werden. Der partial mit Coffein vergiftete Muskel entwickelt einen Demarkationsstrom von gleicher Richtung und Stärke, wie ein partial verbrannter, abgetöteter Muskel. Der Coffeinmuskel sieht genau so aus wie ein gesottener Muskel und ist von einer gewissen Grenze ab irreversibel verändert. Eine Starre macht auch partielles Eintauchen in destilliertes Wasser, die bekannte Wasserstarre. Hier handelt es sich aber um etwas ganz anderes wie bei der Coffeinstarre. Denn der wasserstarre Muskel ist stromlos, wie schon aus den bekannten Biedermannschen[2] Untersuchungen hervorgeht. Sie ist im Gegensatz zur Coffeinstarre glatt reversibel. Ebenso zeigt Biedermann, daß der partiell mit Kali vergiftete Muskel einen maximalen, aber auch glatt reversiblen Demarkationsstrom verursacht. Coffein dagegen macht einen irreversiblen Strom. Die Coffeinschädigung geht also viel weiter als die Kaliwirkung. Im Wesen aber dürfte der Coffeinwirkung der gleiche Ionenvorgang zugrunde liegen, wie der Kaliwirkung.

M. Henze[3] untersuchte diesen Coffeinstrom quantitativ. Er fand, daß, wenn ein Muskel partiell in eine 0,3%ige Coffeinlösung eintaucht, er, wie seine spätere Durchschneidung zeigt, einen maximalen Demarkationsstrom aufweist. Bei 0,1% Coffein ist der Strom noch fast maximal, während eine 0,085%ige Lösung von Coffein bloß 30% des Möglichen erzielt. Der maximale Demarkationsstrom wird langsam in etwa 30 Minuten erreicht. Die Werte sind genau von der Größenordnung, wie sie bei einer Durchströmung erzielt und auch von uns bestätigt werden konnten.

[2] Hering-Biedermann: Beiträge V. Die Abhängigkeit des Muskelstroms von lokalen, chemischen Veränderungen der Muskelsubstanz. Prag 1880, S. 110, Bd. 83. — [3] Pflügers Arch. **92**, 451 (1932).

Unter Dittler wurde durch Reinhard Müller[4] in letzter Zeit die funktionelle Wirkung des Coffeins auf die Skeletmuskulatur gemessen. Es wurde eine optimale Grenzlösung von 40 mg% gewählt, in der der ausgeschnittene Muskel einige Zeit gebadet wurde, um dann bei einem elektrischen Einzelschlag die bekannte Überhöhung der Einzelzuckung zu zeigen. Bei der verwendeten Konzentration mußte nach J. A. Secher (l. c.) die Coffeinwirkung schon morphologisch sichtbar sein. Es scheint also zwischen sichtbarer und funktioneller Deformation kein allzugroßer Sprung zu sein. Vielleicht drängt diese Beobachtung zu dem Schluß, daß auch alle funktionellen Coffeinwirkungen letzten Endes Membranwirkungen sein könnten.

Spezifität und Antagonismen.

Die Spezifität der Wirkung am Muskel ist nicht streng nur für Coffein. Nach J. A. Secher (l. c.) haben die gleiche Starrewirkung das Xanthin und seine methylierten Abkömmlinge. Als Grenze wird angegeben:

für Xanthin und Theobromin ..... 1 : 50000
für Coffein und Theophyllin ..... 1 : 30000.

Die bekannten neueren synthetischen methylierten Xanthinprodukte sind noch nicht untersucht. Die Starre-Reaktion ist also eine Gruppenreaktion, in dieser Gruppe aber auch eine sehr empfindliche Identitätsreaktion. Man wird bei der Coffeinmessung durch die Starre die anderen Glieder irgendwie ausschließen müssen, was wohl selten schwer fällt.

Von Schüller[5] ist die merkwürdige Tatsache gefunden worden, daß die Coffeinstarre durch Novocain aufgehoben oder verhindert wird, auch der Demarkationsstrom nicht zustande kommt. Schüller deutete die Beobachtungstatsache durch eine extramuskuläre physiko-chemische Einwirkung von Novocain auf Coffein. Es soll sich eine Art Komplex bilden. Zipf[6] widerspricht der Auffassung in entbehrlicher Weise, wie mir scheint, denn der Angriffspunkt des Antagonisten wird wohl weder extramuskulär noch intramuskulär sein, sondern in der Muskelmembran liegen, die durch Novocain verhindert wird, das Coffein ins Innere des Muskels eindringen zu lassen.

Eigene Versuche.

Bei der Ausarbeitung einer quantitativen Meßmethode von Coffein durch die Starrewirkung gingen wir von der Überlegung aus, daß das Coffein weniger in sehr kleinen Konzentrationen, als vielmehr in sehr kleiner absoluter Menge nachgewiesen werden soll. Die bisherigen Wege, den isolierten Muskel etwa in die Lösung von Coffein einzulegen, oder den Muskel in situ von der Aorta aus zu durchströmen, verbieten sich deshalb von selbst, weil immerhin ein großer Verbrauch von Coffeinlösung, damit auch absoluter Substanz, nötig ist. Das Gegebene und methodisch

[4] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 241, (1936). — [5] Ebenda **105**, 299 (1925). — [6] Ebenda **140**, 56 (1929); **149**, 76 (1930).

Neue war für uns, die Coffeinlösung unmittelbar in einen ausgeschnittenen Gastrocnemius von Rana temporaria zu injizieren. Zu diesem Zwecke wurde der Muskel in üblicher Weise an einen fünffach vergrößernden Schreibhebel gebracht, mit 20 g Gewicht (nicht mehr) direkt belastet, und die erzielte Kontrakturwirkung graphisch registriert.

Nach vielen Messungen wiegt der Gastrocnemius eines etwa 35 g schweren Grasfrosches etwa 0,5 g. In seinen Bauch kann man bequem und verlustlos 0,1 ccm Flüssigkeit injizieren*. Das Maximum an Coffein, das er für eine eben gerade noch als maximal erkenntliche Kontraktur braucht ist etwa eine 0,15 %ige Coffeinlösung, also in 0,1 ccm Volumen die absolute Menge von 0,15 mg. Von dieser Menge abwärts kommt man

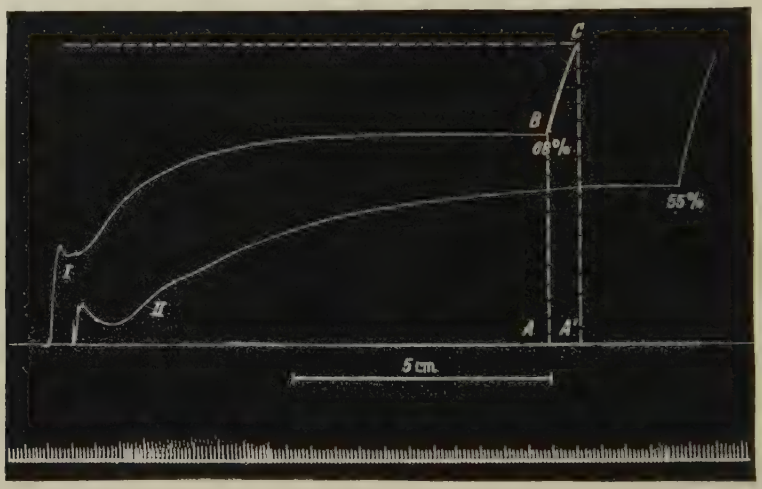


Abb. 1. Zwei submaximale Coffeinkontrakturen. Kontraktur II ist mit 20 % weniger Coffein angestellt als Kontraktur I; *B* maximal erreichte Kontraktur; *C* Gipfel der supplementären Kontraktion; *A—C/A—B* = Kontrakturwirkungsgrad der Lösung I, berechnet zu 68 %.

zur untersten, nachweisbaren Grenzmenge, die bei etwa 40 γ liegt. Nimmt man die große Wahrscheinlichkeit an, daß das Coffein sich nach der Injektion und während der Kontraktur gleichmäßig über den ganzen Muskel verteilt, so herrscht im endlichen Diffusionsgleichgewicht bei Injektion von 0,1 ccm einer 0,15 %igen Lösung die Konzentration von 1 : 4000, was ungefähr der Größenordnung der von J. A. Secher ermittelten Werte entspricht.

Durch zahlreiche Vorversuche, bei denen stets die oben angegebenen Bedingungen eingehalten wurden, besonders die der Belastung mit 20 g,

* Die exakte Dosierung von 0,1 ccm herab bis zur untersten Grenze ist sehr leicht, wenn man die Präzisionsspritze von 0,15 ccm Fassungsvermögen, wie sie in diesem Archiv [7] beschrieben worden ist, verwendet.

[7] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 456 (1937).

wurde gefunden, daß von 0,15 mg Coffein abwärts der jeweils erreichte Starregrad der Dosis annähernd proportional ist. Die Menge von 0,15 mg verursacht eben gerade eine 100%ige Kontraktur, exakt gemessen eine 98%ige. Die anderen, von kleineren Dosen erreichten Kontrakturgrade wurden als Prozente des erreichbaren Maximums dargestellt. Das erreichbare Maximum wurde dadurch gefunden, daß man am Schluß des Versuchs durch 5 Sekunden lang anhaltendes Tetanisieren mit maximal wirksamen Induktionsströmen den Muskel reizte. So entstand eine supplementäre Kontraktion, deren Gipfel anzeigt, wie weit überhaupt der Muskel sich kontrahieren kann. Es sind bekanntlich 30% seiner Ruhelänge. So sind zu verstehen die Abb. 1 und die Abb. 2. Letztere stellt gewissermaßen eine Eichungsskala dar. Die Skala kann natürlich auch in Zahlen ausgedrückt werden, indem man den für jede absolute Menge erreichten

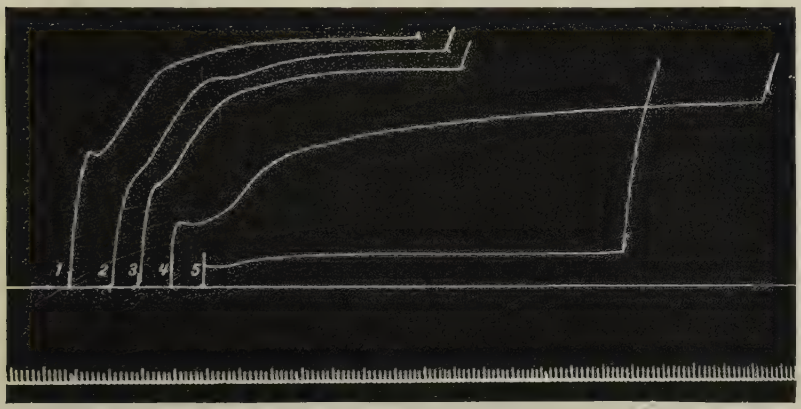


Abb. 2. Eichungsskala für fünf absteigende Coffeinmengen von 0,15—0,03 mg Coffein.

Kontraktionsgrad als Prozente des möglichen Maximums angibt. Diese Darstellung ist dann für den oben erwähnten Versuch die folgende:

Coffeinum purum.

1. 0,15 mg = 98% Kontraktur
2. 0,12 mg = 92% „
3. 0,09 mg = 88% „
4. 0,06 mg = 79% „
5. 0,03 mg = 17% „

Im Verlauf der Kontrakturkurve sind einige Einzelheiten zu bemerken. In den ersten paar Sekunden nach der Injektion kontrahiert sich der Muskel rasch (vgl. Abb. 2). Der Kontrakturvorgang erfährt dann eine Geschwindigkeitshemmung, unter Umständen bei niedrigen Mengen auch eine Umkehr, geht aber nach längerer oder kürzerer Zeit weiter, bis das endliche Maximum

erreicht wird, und die Kurve nunmehr parallel der Abszisse verläuft. Der Moment wurde als Endpunkt angesehen und durch Setzung des supplementären elektrischen Reizes der Kontrakturgrad ermittelt. Manchmal verläuft die Kurve für längere Zeit diskontinuierlich mit mehreren Anstiegsverzögerungen, erreicht aber immer eine sichere Endlage. Wir vermuten, daß solche Deformationen der Kurve dadurch zustande kommen, daß die jeweils injizierten 0,1 ccm Coffeinlösung in dem gefiederten Gastrocnemius zunächst die der injizierten Flüssigkeit naheliegenden Muskelfasern unmittelbar treffen und dann durch einen 30 Minuten anhaltenden Diffusionsstrom die gleichzeitige Verteilung des Coffeins bis zum Endpunkt stattfindet. Bei nicht maximalen Konzentrationen verbleiben Endreste an Kontraktilität, also ein Rest der Leistungsfähigkeit der ganzen Muskelfaser, denn diese ist nicht etwa örtlich ungleichmäßig vergiftet.

Eine 100%ige Kontraktur ist nicht eindeutig definiert. Da der Muskel sich mit übermaximalen Dosen auch nur auf 100% kontrahieren kann, werden sowohl eben maximal wirksame, als alle übermaximal wirksamen Mengen die gleiche Kontraktur hervorrufen. Es lag infolgedessen nahe, einen niedrigeren Kontrakturwert mit submaximalen Dosen, der noch eine deutliche supplementäre Kontraktionswirkung hat, als Unterlage für die bezweckte Messung zu wählen. Es schien gegeben, den Halbwert für diese Zwecke zu wählen. Leider ist aber die Streuung mit weit untermaximalen Dosen eine recht große, so daß wir auf die Festlegung eines allgemein gültigen Halbwertes verzichten mußten. Diese submaximalen Kontrakturwerte sind allenfalls zu Schätzungszwecken geeignet. Zu Meßzwecken sind wir aber doch auf das Kontrakturmaximum angewiesen. Als Maximum sahen wir aber nicht die gerade 100%ige Kontraktur an, sondern eine zwischen 95—100% liegende, meist 98%ige, bei der der elektrische Reiz eine gerade noch meßbare Supplementärkontraktion auslöst. Auf Grund sehr vieler Versuche hat sich ergeben, daß diese Kontraktur erreicht wird, wenn man 0,15 mg Coffein in 0,1 ccm 0,7%igem NaCl gelöst intramuskulär injiziert.

Zur Durchführung der Messung gingen wir in der Weise vor, daß wir zunächst eine sichere übermaximale Dosis injizierten, und allmählich mit der Dosis abstiegen, bis nach erreichter Endwirkung der elektrische Reiz eben gerade noch eine supplementäre Verkürzung anzeigte. Dies wurde erreicht schon bei einer 98%igen Kontrakturwirkung (vgl. Abb. 2, Nr. 1). Wie der folgende Abschnitt zeigt, arbeitet diese Methode mit hinreichender Genauigkeit.

Nutzanwendungen.

I. Coffeingehalt einer Coffeinum purum-Tablette.

Die Tablette wird in 25 ccm 0,7%igem Kochsalz gelöst. Die Auswertung gibt das folgende Bild (Abb. 3): Der Grenzwert für die maximale Kontraktur liegt bei 0,08 ccm = 0,15 mg Coffein. Daraus berechnen sich

47 mg. Die Tablette ist deklariert zu etwa 50 mg. Die chemische Kontrolle ergab 52 mg.

II. Eine Kaffeebohne.

Eine Bohne gerösteten Kaffees von 0,25 g Gewicht wird mit Petroläther entfettet, dann in der Reibschale pulverisiert und im Soxleth 24 Stunden mit feuchtem Chloroform unter Zusatz von etwas Ammoniak extrahiert. Das mit wasserfreiem Glaubersalz getrocknete Chloroform

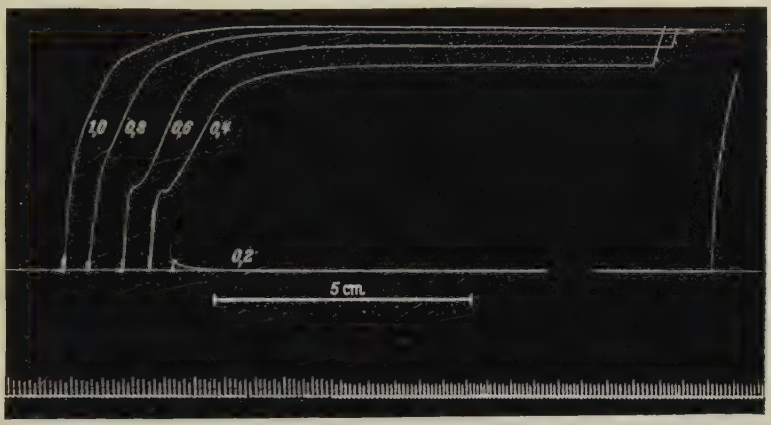


Abb. 3. Auswertung des Coffeingehaltes einer Tablette. Fünf Kontrakturkurven, jede folgende 0,02 ccm weniger Coffeinlösung wie die vorhergehende. 1. Der submaximale Wert; 2. der Meßwert.

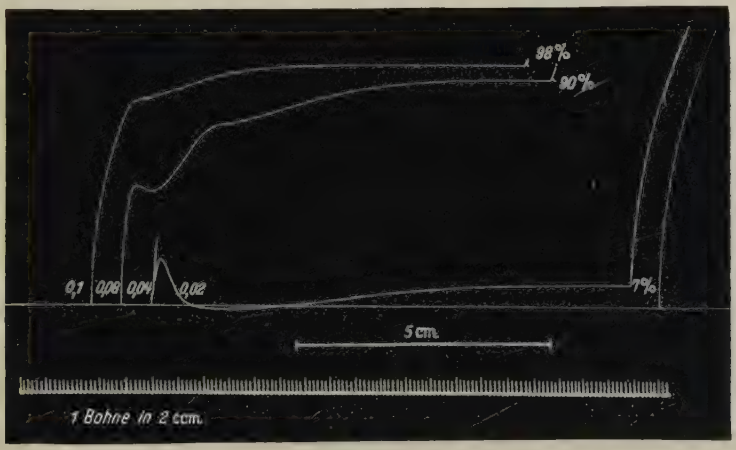


Abb. 4. Auswertung einer Kaffeebohne.

wird verjagt und der Rückstand mit 2 ccm 0,7%iger Kochsalzlösung aufgenommen. Die Auswertung gibt die Reihe Abb. 4.

für 0,1 ccm = 98% Kontraktur
„ 0,08 ccm = 90% „
„ 0,04 ccm = 7% „

98% Kontraktur entspricht 0,15 mg Coffein. Daraus berechnet sich ein Coffeingehalt von 3 mg pro Bohne von 0,25 g oder für 100 g Kaffee = 1,2 g Coffein, was ungefähr der Größenordnung nach stimmen mag, wenn auch der Coffeingehalt des vorliegenden Kaffees nicht chemisch bestimmt wurde.

III. Kaffeeaufguß.

Von derselben Kaffeesorte, von der die obenerwähnte Kaffeebohne stammt, wurde ein wässeriger, 10%iger Infus hergestellt. Die Auswertung zeigt Abb. 5, die sehr merkwürdig ist. Die Auswertung wurde hier zunächst

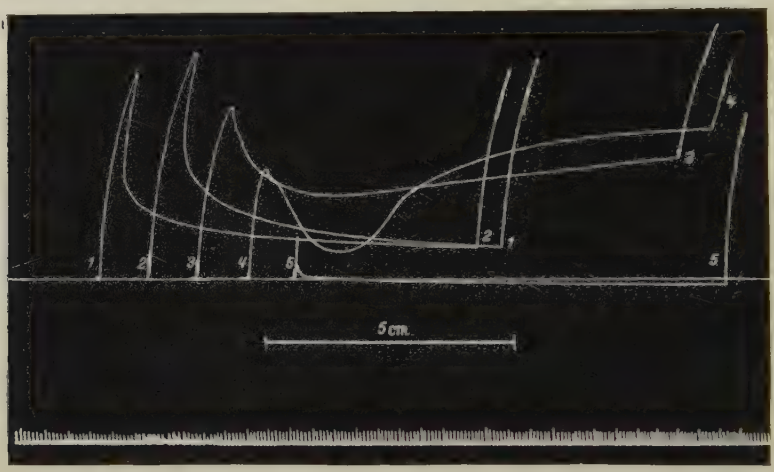


Abb. 5. 10%iger, unveränderter Kaffeeaufguß von geröstetem Kaffee. Jede folgende Injektion ist um 0,02 ccm kleiner als die vorhergehende.

vorgenommen mit dem unveränderten Infus. Wenn man die Coffeinwerte betrachtet, so entspricht der höchsten Konzentration von 0,1 ccm der geringste Kontrakturwert von 16%. Das Maximum liegt bei 0,04 ccm mit 53% Kontraktur, das Minimum bei 0,02 ccm mit nahezu 0% Kontraktur. Die errechneten Kontrakturwerte bleiben weit zurück hinter den dem vermutlichen Coffeingehalt entsprechenden Werten einer reinen Coffeinlösung. Der Kaffeeabsud ist also bezüglich seiner Kontrakturwirkung durch irgend etwas gehemmt, was ihm beigemischt ist. Um die reine Kontrakturwirkung des Coffeins aus dem wässerigen Kaffeeinfus zu erhalten, wurde dieser mit Chloroform unter Zusatz von Ammoniak ($p_H = 8$) 24 Stunden lang im Apparat von Frerichs perforiert. Man erhält einen gelbgefärbten Chloroformauszug. Nach Verjagen des Chloroforms hinterbleibt eine braune Masse, durchsetzt mit sichtbaren Nadeln von Coffein. Der ganze Rückstand aus 40 ccm Kaffeeabsud wurde in 40 ccm 0,7%iger Kochsalzlösung in der Wärme gelöst. Der größte Teil der braunen Masse bleibt ungelöst. Die Coffeinlösung ist hellgelb. Die

Auswertung dieser Coffeinlösung zeigt die Abb. 5a oder die folgende Ausrechnung:

1. 0,1 ccm = 98% Kontraktur
2. 0,08 ccm = 90% ,,
3. 0,06 ccm = 81% ,,
4. 0,04 ccm = 45% ,,

Daraus ergibt sich, daß tatsächlich eine größere Coffeinwirkung mit dem isolierten Coffein erzielt wird, als dieses im wässerigen Kaffeeinfus

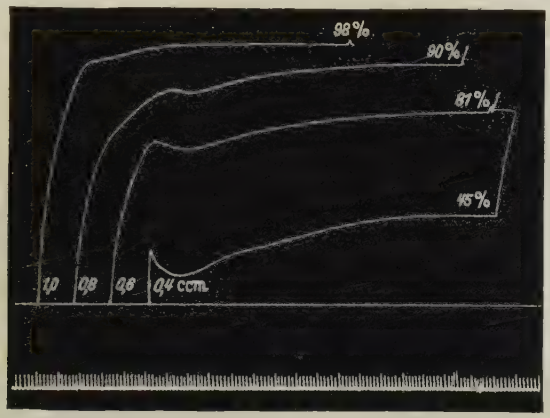


Abb. 5a. Reines Coffein, abgeschieden aus der Infuslösung des Versuchs 5.

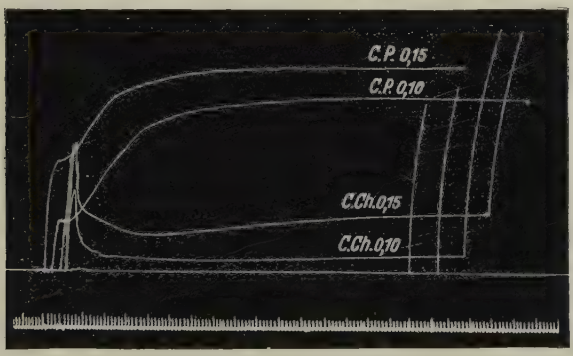


Abb. 5b. Vermutliche Bedeutung des chlorogensauren Kali für die Coffeinkontraktur. Die zwei unteren Kurven sind Wirkung vom chlorogensaurem — Kali — Coffein, die zwei oberen des Äquivalents an reinem Coffein. Es sind jeweils 0,15 mg bzw. 0,1 mg Coffein verwendet worden.

äußert. Zur Aufklärung der Erscheinung wurde in folgender Weise vorgegangen: Es ist bekannt, daß das Coffein im Kaffee zum größten Teil als Chlorogensaures Kali-Coffein enthalten ist. Wenn das Chlorogensaure Kali an der depressiven Wirkung schuld ist, so läßt sich das direkt nach-

weisen. Wir haben spezielle Versuche angestellt, indem wir uns künstlich den Komplex Chlorogensaures-Kali-Coffein darstellten und haben die Wirkung dieses Komplexes mit seinem Äquivalent an Coffeinum purum verglichen. Die Abb. 5b zeigt das Resultat dieses Versuchs. 0,1 mg Coffein in Form von Chlorogensaurem-Kali-Coffein zeigte eine Kontrakturwirkung von 6,7%, 0,15 mg 29%, während die gleiche Menge Coffeinum purum wesentlich höhere Werte ergab. Demnach dürfte mit Wahrscheinlichkeit das Chlorogensaure-Kali die Ursache der depressiven Wirkung sein.

Es erscheint uns nicht ausgeschlossen, daß diese Hemmung durch das Chlorogensaure Kali in dasselbe Erscheinungsgebiet hereingeht, wie der von Schüller[5] gefundene Antagonismus Novocain-Coffein, wobei ebenfalls durch Novocain die Coffeinwirkung unter Umständen sogar völlig aufgehoben werden kann. Wie Schüller ebenfalls zeigte, werden auch die elektrischen Erscheinungen durch das Novocain aufgehoben. Und da die elektrischen Erscheinungen mit größter Wahrscheinlichkeit Membranphänomene sind, so ist es nicht ausgeschlossen, daß die vielumstrittene Bedeutung des Chlorogensauren-Kali im Kaffee auf diesem Wege noch ihre Erklärung finden könnte.

IV. Weitere Kaffeefragen.

Das Coffein ist in der Kaffeebohne nach den überzeugenden Untersuchungen von Gorter[8] an Chlorogensaures Kali gebunden. Es ist in dieser Form leicht wasserlöslich. Dies dürfte überhaupt der Sinn des Chlorogensauren-Kali-Coffeins sein, denn das reine Coffein ist bekanntlich in kaltem Wasser schwer löslich. Dagegen ist das Chlorogensaure Kali-Coffein unlöslich in trockenem Chloroform, in dem das reine Coffein sehr leicht löslich ist. Dadurch sind die Wege zur Trennung von Coffein und Chlorogensaurem-Kali-Coffein, vielleicht auch von Bohnenkaffee und coffeinisiertem Ersatzkaffee gegeben. Chlorogensaures Kali-Coffein zerfällt in Wasser sehr leicht in seine Bestandteile, so daß alle wässerigen Behandlungsformen des Kaffees, auch das Aufgußgetränk, die in trockenem Zustand sehr gut existenzfähige, chemisch wohl charakterisierte Verbindung Chlorogensaures-Kali-Coffein nicht mehr enthalten, sondern nur die Bestandteile nebeneinander. Der Chlorogensäure scheint demnach auch der praktische Wert zuzukommen, die Erschöpfbarkeit der Kaffeebohne bei der Herstellung des Getränkes zu begünstigen, wenn die Verbindung den Röstprozeß übersteht. Der Röstprozeß geht bekanntlich bis über die Temperaturen der Flüchtigkeit des Coffeinum purum. Es wäre denkbar, daß beim Rösten auch schon Chlorogensäure zerstört wird. Deshalb wurde folgender Versuch gemacht:

10 g absolut trockene, geröstete Kaffeebohnen wurden mit absolut trockenem Chloroform unter Zusatz von etwas wasserfreiem Glaubersalz

[8] A. **358**, 327; **359**, 217 (1908); A. **247**, 184 (1909); A. **379**, 110 (1911).

24 Stunden lang extrahiert. Der nach dem Verjagen des Chloroforms verbleibende Rückstand, der keine sichtbaren Kristalle aufwies, wurde in nur 2 ccm 0,7 %iger Kochsalzlösung aufgenommen und am Froschmuskel auf seine Wirksamkeit geprüft. Wie die Abb. 6 zeigt, ist er mit dieser Methode geprüft absolut unwirksam, enthält also jedenfalls weniger als 40 γ Coffein in 0,1 ccm, woraus folgt, daß die Bindung Chlorogensaures-Kali-Coffein praktisch röstbeständig ist. Darauf wurde derselbe mit trockenem Chloroform vorbehandelte Kaffee mit feuchtem Chloroform, unter Zusatz von etwas Ammoniak abermals 24 Stunden extrahiert. Es wurde darauf gesehen, daß freies Wasser vorhanden war und das noch anwesende Glaubersalz gelöst wurde. Die Auswertung ergab den vollen zu erwartenden Gehalt an Coffein (Abb. 6, 2).

Nach den Untersuchungen von Gorter (l. c.) ist die Chlorogensäure im Rohkaffee im Überschuß ihrem Coffeinpartner gegenüber enthalten.

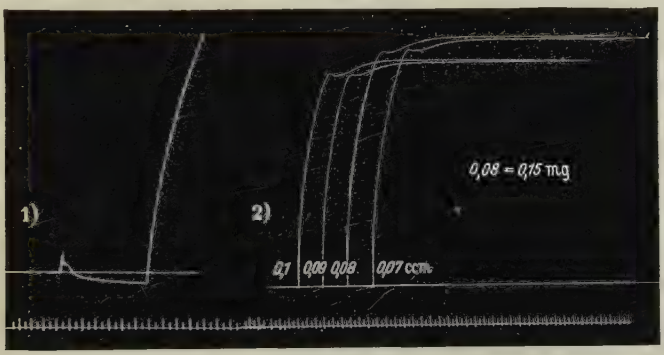


Abb. 6. 1. Coffein aus absolut trockenem Bohnenkaffee mit Chloroform extrahiert. 2. Coffein aus derselben Bohnenkaffeeprobe wie Nr. 1 mit feuchtem Chloroform extrahiert.

Nach unseren Untersuchungen scheint die Chlorogensäuremenge durch den Röstprozeß wenn überhaupt, dann nicht so stark angegriffen worden zu sein, daß nicht noch genügend von ihr für die Bindung des vorhandenen Coffeins übrig bleibt.

V. Coffeinfreier Kaffee.

Schließlich wurde als Spezialfall des Problems des Nachweises kleinster Coffeinmengen auf pharmakologischem Wege einer der vielen „coffeinfreien" Kaffees (Aufdruck auf der Originalpackung der verwendeten Sorte: garantiert coffeinfrei) herangezogen.

30 g dieses Kaffees wurden zu 300 ccm eines Kaffeeaufgusses verarbeitet. Der Gesamtaufguß im Frerichsschen Apparat 24 Stunden lang mit Chloroform perforiert, ergab einen Chloroformrückstand von gelben, glasigen Massen, in denen Coffeinnadeln nicht zu finden waren. Dieser Rückstand wurde in 5 ccm 0,7 %iger Kochsalzlösung heiß auf-

genommen. Nach dem Erkalten schied sich der größte Teil der braunen Masse als braune Kugeln aus, die ein zweites Mal mit ebenfalls 5 ccm 0,7%iger Kochsalzlösung behandelt wurden. Der ursprüngliche Infus wurde ein zweites Mal mit Chloroform perforiert und wie der erste Extrakt weiterbehandelt. Das Ergebnis der pharmakologischen Auswertung am Froschmuskel ist in Abb. 7 wiedergegeben, d. h. der erste Extrakt holt 18,75 mg Coffein aus den 300 ccm Infus heraus, der unlösliche Anteil des Chloroformextrakts ist coffeinfrei. Die zweite Extraktion mit Chloroform ergab noch einen kleinen Rest von schätzungsweise 2,5 mg Coffein. Dieser garantiert „coffeinfreie" Kaffee enthält demnach 0,07 % Coffein.

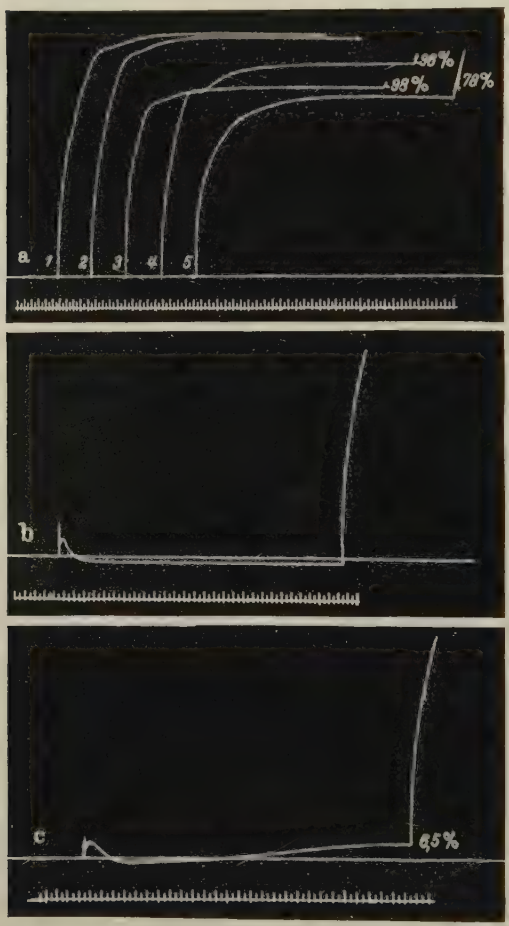


Abb. 7. Coffeinfreier Kaffee. a) Erste Perforation. b) 2. Erschöpfung des unlöslichen Chloroform-Rückstandes = wirkungslos. c) 2. Perforation = minimale Wirkung.

Zusammenfassung.

1. Die Coffeinstarre der Skeletmuskulatur des Frosches wird zu einer pharmakologischen Meßmethode für Coffein ausgearbeitet.

2. 0,15 mg Coffein machen im ausgeschnittenen Gastrocnemius des Frosches noch eine 98%ige Kontraktur; 40 γ Coffein eine noch eben gerade sichtbare.

3. Dieser oberste Wert einer 98%igen Kontraktur kann zu Meßzwecken verwendet werden, die Werte von da an abwärts zu Schätzungszwecken.

4. Einige Anwendungen der Methode werden mitgeteilt.

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Sofia.
Direktor: Prof. Dr. D. P. Orahovats.

Über die Art des Reagierens der Blutgefäße.

Von

T. Gotsev.

Mit 5 Textabbildungen (7 Einzelbildern).

(Eingegangen am 14. Februar 1941.)

Bei der Untersuchung der Wirkung des Adrenalins auf die Blutgefäße haben Orahovats und Gotsev[1] vermittels Versuchen an Tieren festgestellt, daß diese Wirkung vor allem von der Stelle, an der die Einspritzung vorgenommen wird, abhängig ist. Während die Einspritzung des Adrenalins in die oberflächlichen Venen — V. jugularis ext. oder V. femoralis — eine bestimmte Wirkung auf den Zustand der Blutgefäße des Dünndarms verursacht, hat die Verabfolgung derselben Dosis Adrenalin in die A. mesenterica superior die entgegengesetzte Wirkung. So verursacht die Einspritzung von Adrenalin in die V. jugularis ext., nach den auf ein Versuchsmaterial von 101 Hunden und 10 Katzen gegründeten Erforschungen derselben Verfasser, Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms in ungefähr $^2/_3$ der Fälle und Zusammenziehung derselben nur in etwa $^1/_3$ der Fälle. Die Einführung des Adrenalins in die A. mesenterica superior hingegen ruft in allen Fällen Zusammenziehung der Blutgefäße des Dünndarms hervor. Unter dem Einfluß der gleichen Dosen Adrenalin, die einmal in eine oberflächliche Vene, ein andermal in eine Arterie, die Abzweigungen in den Dünndarm gibt, eingespritzt wurden, beobachtet man einmal Erweiterung, ein andermal Zusammenziehung der Blutgefäße des Dünndarms. Ein und dieselbe Dosis Adrenalin, die an zwei verschiedenen Stellen ins Blutgefäßsystem eingeführt wird, ergibt zwei qualitativ verschiedene Veränderungen im Zustand der Blutgefäße — Zusammenziehung und Erweiterung. Dieser Unterschied in der Art der Wirkung des Adrenalins kann an ein und demselben Tier beobachtet werden, wenn das Adrenalin nacheinander, erst in eine oberflächliche Vene und danach in die A. mesenterica sup., oder umgekehrt, eingespritzt wird.

Wir stellten uns in der vorliegenden Arbeit zur Aufgabe, die Wirkung auf die Blutgefäße einzelner Gefäßgebiete zu erforschen, welche Wirkung nach intraarterieller und intravenöser Anwendung einiger Stoffe eintritt, die dafür bekannt sind, daß sie den Zustand der Blutgefäße und das Niveau des Blutdruckes beeinflussen, nämlich: Adrenalin, Ephedrin, Histamin, Azetylcholin, Veritol, Ergotamin u. a.

Die Versuche wurden an Hunden beiderlei Geschlechts, mittleren Gewichts und verschiedenen Alters ausgeführt. Es wurden die Verände-

rungen untersucht, die im Zustand der Blutgefäße des Dünndarms, der Nieren, der Milz und der Extremitäten eintreten, zu welchem Zweck die Onkographen von Orahovats und Popoff[2] und der Plethysmograph von Orahovats, der von ihm im Institut konstruiert worden ist, verwendet wurden. Gleichzeitig hiermit wurden auch die Veränderungen im Blutdruckniveau mit Hilfe des offenen Quecksilbermanometers von Ludwig untersucht.

Die Technik der Onkographie ist von Orahovats[3] beschrieben; es ist dieselbe, die wir[4] auch bei anderen Untersuchungen angewendet haben. Die Lösungen wurden immer ex tempore aus Originalampullen hergestellt. Zum Narkotisieren der Tiere benutzte man hauptsächlich Luminal-Natrium.

Ergebnisse:

1. Adrenalin.

Bei der intraarteriellen Anwendung des Adrenalins erfolgt Zusammenziehung derjenigen Gefäßgebiete, zu denen das Adrenalin gelangt, bevor es das Herz erreicht, und Erweiterung der meisten übrigen Gefäßgebiete im Körper. Diese Art des Reagierens der Blutgefäße hängt weder von der Dosis, noch von dem Grade der Verdünnung des Adrenalins ab. Die Wirkung auf die Blutgefäße beginnt fast gleichzeitig mit dem Einspritzen oder 2—3 Sekunden später. Die Zusammenziehung der Blutgefäße geschieht verhältnismäßig schnell, sie erreicht in 10—20 Sekunden ihren Höhepunkt und bleibt auf einem beständigen Niveau eine gewisse Zeit lang, die je nach der Dosis verschieden sein kann. Hiernach wird die Anfüllung der Blutgefäße allmählich besser und erreicht ihr anfängliches Niveau. Die Zeitdauer der ganzen Veränderung im Zustand der Blutgefäße beträgt ungefähr so viel wie diejenige der Veränderungen im Blutdruckniveau, jedoch wird dies in weitaus nicht allen Fällen beobachtet; manchemal dauert die Veränderung im Zustand der Blutgefäße längere, manchmal kürzere Zeit als diejenige im Niveau des Blutdruckes.

Bei der Einspritzung des Adrenalins in die A. femoralis einer der hinteren Extremitäten tritt Zusammenziehung der Blutgefäße derselben Extremität ein, während in den Blutgefäßen der übrigen drei Extremitäten Erweiterung erfolgt.

Die Verabfolgung von Adrenalin in den unteren Teil der Aorta abdominalis verursacht Zusammenziehung der Blutgefäße der beiden hinteren Extremitäten und Erweiterung der Blutgefäße der beiden vorderen Extremitäten des Tieres.

Die Einführung von Adrenalin in den Anfangsteil der Aorta abdominalis ruft Zusammenziehung der Milz, Zusammenziehung der Blutgefäße des Dünndarms, der Niere und der hinteren Extremitäten und Erweiterung der Blutgefäße der vorderen Extremitäten hervor. Dieselben Veränderungen treten auch dann ein, wenn man Adrenalin in die

Aorta thoracica bei geöffnetem Brustkorb und künstlicher Atmung einspritzt. Bei der intravenösen Anwendung des Adrenalins tritt in allen Fällen Zusammenziehung der Milz und Zusammenziehung der Blutgefäße der Nieren ein. Eine Ausnahme hiervon haben wir nicht ein einziges Mal beobachtet. Die Blutgefäße des Dünndarms reagieren, wie oben erwähnt, entweder mit Erweiterung oder mit Zusammenziehung. Man bemerkt eine individuelle Besonderheit, die darin zum Ausdruck kommt, daß jedes einzelne Tier auf seine Art und Weise reagiert, nämlich: bei einem Tier können sich die Blutgefäße des Dünndarms zusammenziehen und bei einem anderen erweitern. Die Art, auf welche die Blutgefäße des Dünndarms des betreffenden Tieres auf Adrenalin reagieren, bleibt während der ganzen Zeit eines akuten Versuches bestehen. So oft man Adrenalin einspritzt, so oft wird man auch ein und dieselbe qualitative Reaktion erhalten. Die Veränderungen in den Versuchsbedingungen, Atropinisierung der Tiere usw. verändern die Art des Reagierens nicht. So zeigt z. B. ein Tier, das zu Beginn des Versuches Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms aufweist, dieselbe Reaktion auch bei jeder folgenden Adrenalinverabfolguug.

Bei der intravenösen Zuführung von Adrenalin tritt in den meisten Fällen Erweiterung der Blutgefäße der Extremitäten ein. Es werden auch Fälle beobachtet, in denen auf die Erweiterung eine kurzdauernde Zusammenziehung folgt, so daß eine Zweiphasenreaktion vor sich geht, ausgedrückt in vorübergehender Erweiterung mit darauffolgender Zusammenziehung. Manchmal erfolgt auch eine Dreiphasenreaktion, ausgedrückt in anfänglicher Erweiterung, darauffolgender Zusammenziehung, wonach unverzüglich wieder Erweiterung einsetzt. Auch hier beobachtet man eine gewisse Individualität, die darin zum Ausdruck kommt, daß jedes einzelne Tier auf seine streng bestimmte Art und Weise reagiert, die sich bei wiederholten Anwendungen von Adrenalin nicht verändert. Dasjenige Tier, das auf Adrenalin mit Erweiterung der Blutgefäße der Extremitäten reagiert, zeigt dieselbe Reaktion bei jeder folgenden Verabfolgung von Adrenalin, unabhängig von der Dosis desselben, der Narkose usw. Dasselbe gilt auch für die Zwei- und Dreiphasenreaktionen. Sowohl in bezug auf die Blutgefäße des Dünndarms, wie auch bezüglich derjenigen der Extremitäten kann man nicht im voraus wissen, auf welche Weise die Gefäße reagieren werden.

Es ist also klar, daß das Adrenalin sowohl Zusammenziehung wie auch Erweiterung der Blutgefäße hervorrufen kann, je nachdem, in welchen Teil des Blutgefäßsystems eingespritzt wird, ob in eine Arterie oder in eine Vene. Außerdem verursacht die Einführung des Adrenalins in eine Arterie zwei entgegengesetzte Veränderungen im Zustande der Blutgefäße der einzelnen Gefäßgebiete, nämlich während die einen zusammengezogen sind, sind die anderen erweitert.

Die Ergebnisse der Versuche beweisen, daß in allen denjenigen Organen, zu denen das Adrenalin direkt gelangt, ehe es durch das Herz geht, Zu-

sammenziehung der Blutgefäße eintritt, während in den übrigen Gefäßgebieten, welche das Adrenalin erreicht, nachdem es durch das Herz gegangen ist, Erweiterung erfolgt. Eine Ausnahme machen in dieser Beziehung zwei Organe, die Nieren und die Milz, welche sowohl bei intraarterieller wie auch bei intravenöser Verabfolgung von Adrenalin mit Zusammenziehung reagieren.

Auf Abb. 1 ist das Ergebnis eines solchen typischen Falles dargestellt. Zu Beginn des Versuches wurde $^1/_{50}$ mg Adrenalin in die V. femoralis sinistra eingespritzt. Man sieht, daß hiernach Erweiterung der Blutgefäße der linken Extremität einsetzt. Einige Minuten später, nachdem die Wirkung des Adrenalins auf die Blutgefäße und den Blutdruck vorübergegangen ist, wurde dieselbe Dosis Adrenalin in die A. femoralis sinistra

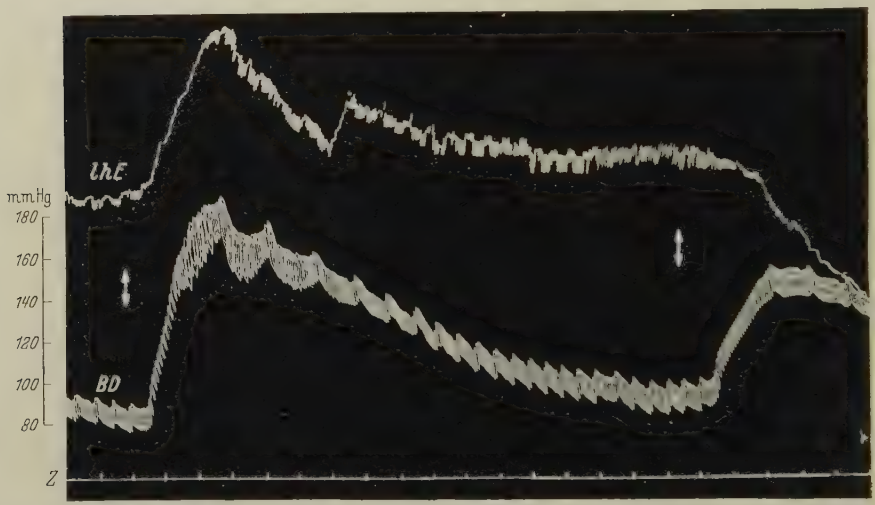


Abb. 1. 18. Januar 1941. Hund, 11 kg, ♂. *lhE* = linke hintere Extremität, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *Z* = Zeit 10 Sekunden. Bei ↕ links wurde $^1/_{50}$ mg Adrenalin in die V. femoralis sin. injiziert, bei ↕ rechts wurde dieselbe Dosis Adrenalin in die A. femoralis sin. injiziert.

eingeführt. Es ist zu sehen, daß als Folge hiervon Zusammenziehung der Blutgefäße derselben Extremität eintritt.

Bei der Einspritzung gleicher Dosen Adrenalin in verschiedene Teile des Blutgefäßsystems beobachtet man auch eine andere interessante Tatsache, nämlich die nicht gleiche Erhöhung des Blutdruckes. Wenn man gleiche Dosen Adrenalin nacheinander in dieselbe Extremität ein und desselben Tieres einführt, indem man einmal in die Arterie und das nächste Mal in die Vene einspritzt, oder umgekehrt zuerst in die Vene und dann in die Arterie, so ist die Blutdruckerhöhung in den beiden Fällen nicht die gleiche. Bei der Verabfolgung in die Vene ist die Blutdrucksteigerung um einige Millimeter höher als bei Einspritzung in die Arterie. Ein solcher

Fall ist auf Abb. 1 dargestellt, wo zu Beginn des Versuches $^1/_{50}$ mg Adrenalin in die V. femoralis der linken Extremität eingespritzt wurde, und später — dieselbe Dosis in die A. femoralis derselben Extremität. Man sieht, daß die Erhöhung des Blutdruckes bei intraarterieller Anwendung von Adrenalin trotz der Zusammenziehung der Blutgefäße um 25 mm niedriger ist als bei intravenöser Verabfolgung.

Dieser Unterschied ist noch deutlicher ausgeprägt, wenn man nacheinander die gleichen Dosen Adrenalin zuerst in die Aorta abdominalis und danach in die V. cava inferior der Bauchhöhle oder umgekehrt einspritzt. Das Ergebnis eines solchen Versuches ist auf Abb. 2 dargestellt; zu Beginn des Versuches wurde $^1/_{50}$ mg Adrenalin in den Anfangsteil der Aorta abdominalis eingespritzt. Etwas später, nachdem die Wirkung des

Abb. 2. 1. Februar 1941. Hund, 21 kg, ♂. *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ▼ links wurde $^1/_{50}$ mg Adrenalin in den Anfangsteil der Aorta abdominalis injiziert, bei ▼ rechts wurde dieselbe Dosis Adrenalin in die V. cava inferior injiziert.

Adrenalins schon vorüber war, wurde dieselbe Dosis Adrenalin in die V. cava inferior in derselben Höhe der Bauchhöhle verabfolgt, wo auch die aortale Einspritzung vorgenommen wurde. Aus der Abbildung ist ersichtlich, daß als Folge aller beider Einspritzungen Erhöhung des Blutdruckes eintritt, daß aber bei der venösen Verabfolgung die Erhöhung viel steiler ist und ein höheres Niveau erreicht als bei der aortalen Einführung. Während bei der letzteren die Blutdrucksteigerung um 30 mm Hg geschieht, erhöht sich der Blutdruck bei der intravenösen Einspritzung um 90 mm Hg. In diesem Falle beginnt die Blutdruckerhöhung bei der intraaortalen Verabfolgung 3—4 Sekunden nach dem Einspritzen, während dies bei der intravenösen Einspritzung 3—4 Sekunden später geschieht. Trotz der Veränderung im Zustand der Blutgefäße der Bauchorgane und der Extremitäten, die bei der intraaortalen Verabfolgung von Adrenalin in Zusammenziehung zum Ausdruck kommt, steigt der Blutdruck verhältnismäßig langsamer, und das Niveau, das er erreicht, ist niedriger als das bei der intravenösen Anwendung von Adrenalin.

Es ist klar, daß die Erhöhung des Blutdruckes in denjenigen Fällen größer ist, in denen das Adrenalin schneller zum Herzen gelangt und dort seine Wirkung ausübt.

An zweiter Stelle fällt hier auch eine andere interessante Tatsache auf. Es wir allgemein angenommen, daß einer der Hauptfaktoren, welcher die Erhöhung des Blutdruckes bei Anwendung von Adrenalin bewirkt, die Veränderung im Zustande der Blutgefäße großer Gefäßgebiete, nämlich die Zusammenziehung ist, von welcher man annimmt, daß sie in ausnahmslos allen Fällen eintritt. Wir hatten die Möglichkeit, vielfach Fälle zu beobachten, in denen bei intraarterieller Zuführung von Adrenalin die Erhöhung des Blutdruckes, trotz der starken Zusammenziehung der Blutgefäße großer Gefäßgebiete, wie des Splanchnicus und der Muskulatur der Extremitäten, später erfolgt als bei intravenöser Verabfolgung von Adrenalin. Bei der intraarteriellen Einspritzung müßte die Blutdrucksteigerung sofort nach der Verabfolgung einsetzen, da die Zusammenziehung der Blutgefäße in diesen Fällen viel schneller eintritt als bei der venösen Einspritzung, bei welcher die Veränderungen langsamer vor sich gehen, und zwar erst, nachdem das Adrenalin durch das Herz gegangen ist und die entsprechenden großen Gefäßgebiete erreicht hat.

2. Ephedrin.

Auch bei der Verabfolgung von Ephedrin in verschiedene Teile des Blutgefäßsystems beobachtet man ähnliche Unterschiede in der Art des Reagierens der Blutgefäße. Je nach der Einspritzungsstelle kann man Zusammenziehung oder Erweiterung der Blutgefäße ein und desselben Gefäßgebietes, unabhängig von der angewendeten Dosis, bemerken. So erfolgt in den Fällen, in denen Ephedrin in die A. femoralis einer Extremität eingespritzt wird, Zusammenziehung der Blutgefäße derselben Extremität und Erweiterung der Blutgefäße der übrigen drei Extremitäten des Tieres. Wenn das Ephedrin in den unteren Teil der Aorta abdominalis eingeführt wird, so tritt Zusammenziehung der Blutgefäße der hinteren Extremitäten und Erweiterung von denjenigen der vorderen Extremitäten ein. Bei Verabfolgung des Ephedrins in den Anfangsteil der Aorta abdominalis zeigt sich Zusammenziehung der Blutgefäße des Dünndarms, der Nieren, der hinteren Extremitäten, Zusammenziehung der Milz und Erweiterung der Blutgefäße der vorderen Extremitäten.

Wenn man das Ephedrin in die Arterie einer Extremität einspritzt, so beginnt die Zusammenziehung der einen Blutgefäße unmittelbar nach der Verabfolgung, während die Erweiterung der anderen Blutgefäße später anfängt. Diese Zeit, die vom Beginn der Veränderung im Zustand der einen Gefäße bis zum Anfang der Veränderung in den anderen Gefäßen, in den Fällen, in denen das Ephedrin intraarteriell angewendet wird, vergeht, hängt von der Stelle, an welcher die Einspritzung vorgenommen

wird, ab. Je länger der Weg ist, den das Ephedrin zurückzulegen hat, bis es das Herz erreicht, desto länger ist diese Zeit. Die Erweiterung der Blutgefäße in denjenigen Gefäßgebieten, zu denen das Ephedrin gelangt, nachdem es durch das Herz gegangen ist, beginnt erst dann, wenn das Ephedrin das Herz erreicht hat und der Blutdruck zu steigen beginnt. Weiterhin verlaufen die Veränderungen in den Blutgefäßen parallel mit den Veränderungen im Blutdruck. Bei der Einspritzung von Ephedrin in die verschiedenen Teile des Blutgefäßsystems, und zwar: in die Aorta thoracica, die Aorta abdominalis, A. femoralis, V. femoralis, V. jugularis u. a., stellt man fest, daß die Wirkung auf den Blutdruck um so eher eintritt, je schneller die Ephedrinlösung das Herz erreicht. Am schnellsten ist die Wirkung des Ephedrins, wenn es in die V. jugularis eingespritzt wird, langsamer bei Einführung in die V. femoralis, noch langsamer bei Verabfolgung in eine Arterie, und am langsamsten, wenn es in die Aorta eingespritzt wird.

Auch hier muß der Umstand hervorgehoben werden, daß bei der intraarteriellen Einspritzung, trotzdem die Veränderungen im Zustand der Blutgefäße sofort nach der Verabfolgung des Stoffes einsetzen, die Veränderung im Blutdruckniveau später beginnt, als bei intravenöser Verabreichung derselben Dosis, bei welcher die Ephedrinlösung einen viel längeren Weg zurückzulegen hat, bis sie zu den großen Gefäßgebieten gelangt und Reaktion der Blutgefäße hervorruft.

In einer früheren Arbeit haben wir[4] festgestellt, daß die intravenöse Einspritzung von Ephedrin nicht Zusammenziehung der Blutgefäße der großen Gefäßgebiete verursacht wie dies gewöhnlich angenommen wird, sondern Erweiterung. Die Einführung von Ephedrin in die Arterien bewirkt Zusammenziehung der Blutgefäße, durch die es hindurchgeht, bevor es das Herz erreicht. Die beiden verschiedenen Veränderungen — Zusammenziehung und Erweiterung — können nacheinander in ein und demselben Gefäßgebiet beobachtet werden, wenn man dem Tier einmal Ephedrin in die V. femoralis und später, nachdem die Wirkung des Ephedrins vorüber ist, dieselbe Dosis in die A. femoralis einspritzt, oder aber, wenn das Ephedrin einmal in V. cava inferior und danach in die Aorta abdominalis eingeführt wird. Es kann auch umgekehrt vorgegangen werden, indem man zuerst in die Arterie und danach in die Vene einspritzt.

3. Histamin.

Die Wirkung des Histamins auf die Blutgefäße hängt ebenfalls von der Stelle, an welcher die Einspritzung vorgenommen wird, ab, nämlich davon, ob man in eine Arterie oder in eine Vene einspritzt. Aus den Arbeiten von Klisiecki und Holobut[5] und Gotsev[4] her ist bekannt, daß die venöse Verabfolgung von Histamin nicht Erweiterung der Blutgefäße hervorruft, wie dies allgemein angenommen wird, sondern passive Zusammenziehung

der Blutgefäße, auf Absinken des Blutdruckes folgend, verursacht. Eine Ausnahme hiervon machen, wie Gotsev[4] beobachtet hat, nur die Blutgefäße des Dünndarms, und dies nur in denjenigen Fällen, in denen eine gewisse Zeit vor der Verabfolgung des Histamins irgendein anderer Stoff, wie Adrenalin, Atropin u. a., eingespritzt worden ist, in welchen Fällen Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms erfolgt. In allen anderen Fällen bewirkt die venöse Anwendung von Histamin Zusammenziehung der Blutgefäße der Bauchorgane und der Extremitäten.

Bei intraarterieller Einspritzung von Histamin tritt Erweiterung der Blutgefäße von denjenigen Organen ein, zu denen das Histamin direkt

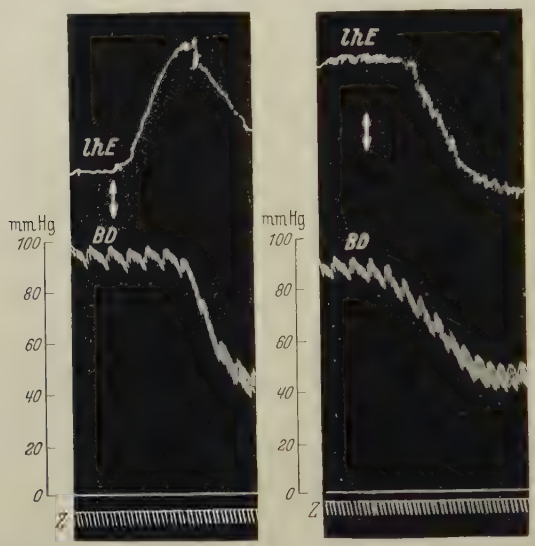


Abb. 3. 17. Januar 1941. Hund, 10 kg, ♂. *lhE* = linke hintere Extremität, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, 0 = Blutdrucknullniveau, *Z* = Zeit in Sekunden. Links: bei ↕ wurde $^1/_{20}$ mg Histamin „Roche" in die A. femoralis sinistra injiziert. Rechts: 10 Minuten später. Bei ↕ wurde dieselbe Dosis Histamin „Roche" in die V. femoralis sinistra injiziert.

gelangt, und Zusammenziehung in denjenigen, zu denen es gelangt, nachdem es durch das Herz gegangen ist.

Auch unter der Einwirkung von Histamin kann man in ein und demselben Gefäßgebiet zwei verschiedene Arten des Reagierens der Blutgefäße beobachten, nämlich wenn man das Histamin einmal in eine Arterie und das nächste Mal in eine Vene einführt.

Ein typischer Fall ist auf Abb. 3 dargestellt. Zu Beginn des Versuches wurde in die A. femoralis sinistra $^1/_{20}$ mg Histamin „Roche" eingespritzt. Als Folge hiervon tritt Erweiterung der Blutgefäße der linken hinteren Extremität ein. Nachdem die Wirkung des Histamins vorüber war, verabfolgte man dieselbe Dosis Histamin in die V. femoralis sinistra desselben

Tieres. Einige Sekunden später erfolgt Zusammenziehung der Blutgefäße derselben Extremität des Tieres. Aus der Abbildung geht deutlich hervor, daß je nach der Stelle, an der die Einspritzung vorgenommen wird, die eine oder die andere Veränderung im Zustand der Blutgefäße ein und desselben Gefäßgebietes des Tieres eintritt. Außerdem geht aus der Abbildung hervor, daß in allen beiden Fällen – bei arterieller und bei venöser Anwendung des Histamins — das gleiche Absinken des Blutdruckniveaus eintritt, unabhängig davon, daß in dem einen Fall Erweiterung, in dem anderen Zusammenziehung der Blutgefäße der linken hinteren Extremität erfolgt.

Die Latenzzeit, d. h. die Zeit, die vom Einspritzen bis zum Beginn der Veränderung im Blutdruck verläuft, ist verschieden. Sie hängt hauptsächlich von der Einspritzungsstelle ab. Je schneller die Histaminlösung zum Herzen gelangt, desto kürzer ist diese Zeit, und umgekehrt: je mehr Zeit verstreicht, bis das Histamin das Herz erreicht, desto länger ist die Latenzzeit. Am kürzesten ist sie, wenn das Histamin in die V. jugularis eingespritzt wird, und am längsten, wenn man es in die Aorta einführt.

4. Azetylcholin.

Je nach der Stelle, an der das Azetylcholin verabfolgt wird, tritt die eine oder die andere Reaktion der Blutgefäße ein und desselben Gefäßgebietes auf. Abhängig davon, ob man in eine Arterie oder in eine Vene einspritzt, erfolgt Erweiterung oder Zusammenziehung der Blutgefäße.

Wie aus den Arbeiten von Gotsev[4,6] und Sturm und Dauter[7] her bekannt ist, verursacht die intravenöse Verabfolgung von Azetylcholin nicht Erweiterung der Blutgefäße, sondern Zusammenziehung derselben, und zwar folgt letztere auf das Absinken des Blutdruckes. Diese Wirkung ist unabhängig von der Dosis und von der Verdünnung des Azetylcholins. Die Zusammenziehung der Blutgefäße beginnt nach dem Absinken des Blutdruckes. Wenn der Blutdruck, nachdem er gesunken war, wieder zu steigen anfängt, tritt allerdings eine Erweiterung der Blutgefäße ein, aber diese Erweiterung ist sekundär, sie folgt unmittelbar auf die Zusammenziehung. Bemerkenswert ist hier der Umstand, daß diese Erweiterung dann vor sich geht, wenn der Blutdruck allmählich zu steigen beginnt, um das ursprüngliche Niveau zu erreichen.

Bei der intraarteriellen Einspritzung des Azetylcholins tritt Erweiterung derjenigen Blutgefäße ein, zu denen die Lösung gelangt, bevor sie durch das Herz geht, und Zusammenziehung in denjenigen Gefäßgebieten, die das Azetylcholin erreicht, nachdem es durch das Herz gegangen ist. Die Reaktion der Blutgefäße ist derjenigen ähnlich, die man bei der intraarteriellen Einführung von Histamin beobachtet. Wenn man also Azetylcholin in die eine Extremität einspritzt, so tritt Erweiterung der Blutgefäße dieser Extremität und Zusammenziehung der Blut-

gefäße der anderen Extremitäten ein. Verabfolgt man das Azetylcholin in den unteren Teil der Aorta abdominalis, so erfolgt Erweiterung der Blutgefäße der hinteren Extremitäten und Zusammenziehung von denjenigen der vorderen Extremitäten. Führt man das Azetylcholin in den Anfangsteil der Aorta abdominalis, tritt Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms, Erweiterung von denjenigen der hinteren Extremitäten, Zusammenziehung der Blutgefäße der vorderen Extremitäten und Zusammenziehung der Milz ein. Die Milz macht eine Ausnahme, indem sie in allen

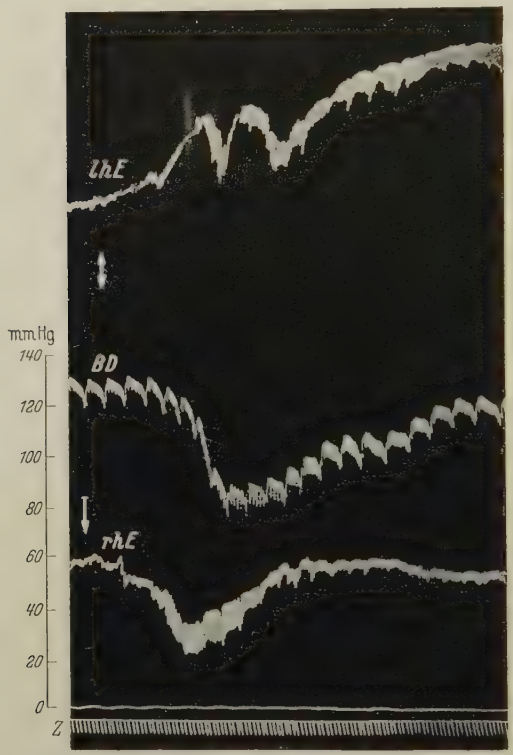


Abb. 4. 29. Januar 1941. Hund, 19 kg, ♂. *lhE* = linke hintere Extremität, *BD* = Blutdruck in der A. carotis. *rhE* = rechte hintere Extremität, 0 = Blutdrucknullniveau, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ⇕ wurde 1 mg Azetylcholin „Roche" in die A. femoralis sin. injiziert.

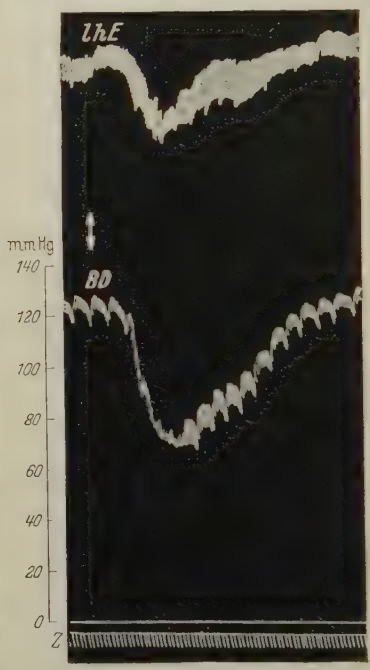


Abb. 4a. Derselbe Versuch. *lhE* = linke hintere Extremität, *BD* = Blutdruck in der A. carotis. 10 Minuten später. Bei ⇕ wurde dieselbe Dosis Azetylcholin „Roche" in die V. femoralis sinistra injiziert.

Fällen, sowohl bei intravenöser wie auch bei intraarterieller Anwendung, mit Zusammenziehung reagiert. Die Zusammenziehung der Milz unter dem Einfluß des Azetylcholins ähnelt sehr der Zusammenziehung der Milz durch Adrenalin. Das Azetylcholin verursacht aktive Zusammenziehung der Milz, und nicht nur passive Volumenabnahme des Organs, welche auf das Absinken des Blutdruckes folgt, eine Tatsache, die auch durch die Untersuchungen von Ferguson, Ivy und Greengard[8] fest-

gestellt wird. Bei intraarterieller Verabfolgung von Azetylcholin beginnen die Veränderungen in den Blutgefäßen derjenigen Gefäßgebiete, zu denen das Azetylcholin gelangt, bevor es durch das Herz geht, sofort nach der Einspritzung, während die Veränderungen in den übrigen Blutgefäßen etwas später einsetzen.

Auf Abb. 4 ist das Ergebnis eines Falles dargestellt, in dem die Veränderungen in den Blutgefäßen der beiden hinteren Extremitäten und gleichzeitig hiermit die Veränderungen im Blutdruckniveau bei einem Hund untersucht worden sind. Zu Beginn des Versuches wurde in die A. femoralis der linken Extremität 1 mg Azetylcholin „Roche" eingespitzt. Aus der Abbildung ist zu ersehen, daß unmittelbar nach der Verabfolgung Erweiterung der Blutgefäße der linken Extremität und einige Sekunden später Absinken des Blutdruckes, begleitet von Zusammenziehung der Blutgefäße der rechten Extremität, erfolgt. Es ist klar, daß hier unter der Einwirkung ein und desselben Stoffes zwei verschiedene Veränderungen im Zustand der Blutgefäße der hinteren Extremitäten eintreten: Erweiterung der einen und Zusammenziehung der anderen.

Einige Minuten später, nachdem die Wirkung des Azetylcholins vorüber war, wurde dieselbe Dosis Azetylcholin in die V. femoralis derselben Extremität eingespritzt. Als Folge hiervon tritt Zusammenziehung der Blutgefäße dieser Extremität ein (Abb. 4a). Aus Abb. 4 und 4a geht hervor, daß die Blutgefäße ein und derselben Extremität unter dem Einfluß von zwei gleichen Dosen Azetylcholin einmal mit Erweiterung, ein andermal mit Zusammenziehung reagieren.

Diese Art des Reagierens hängt ausschließlich von der Stelle ab, wo die Einspritzung vorgenommen wird, ob in eine Arterie oder in eine Vene. Bezüglich der Dosis von Azetylcholin muß gesagt werden, daß bei intraarterieller Anwendung größerer Dosen die einsetzende Erweiterung der Blutgefäße für eine kurze Zeit plötzlich von dem steilen Absinken des Blutdruckes unterbrochen wird.

Es geht also aus dem bisher Dargelegten deutlich hervor, daß bei der Zuführung von Azetylcholin in den venösen oder arteriellen Teil des Blutgefäßsystems Zusammenziehung oder Erweiterung der Blutgefäße ein und desselben Gefäßgebietes eintreten kann, und außerdem in den Blutgefäßen gleicher Gefäßgebiete, wie der vier Extremitäten, verschiedene Veränderungen — Erweiterung der einen von ihnen und Zusammenziehung der anderen — erfolgen können.

5. Veritol.

Die intraarterielle Einspritzung von Veritol verursacht Zusammenziehung der Blutgefäße von denjenigen Gefäßgebieten, durch die das Veritol hindurchgeht, bevor es das Herz erreicht, und Erweiterung der meisten übrigen Gefäßgebiete. Wenn also das Veritol in die Arterie einer

Extremität eingeführt wird, so erfolgt Zusammenziehung der Blutgefäße dieser Extremität und Erweiterung der Gefäße der anderen drei Extremitäten. Verabfolgt man das Veritol in den unteren Teil der Aorta, so wird Zusammenziehung der Blutgefäße der hinteren Extremitäten und Erweiterung derselben der vorderen Extremitäten bewirkt. Auch hier, wie bei allen oben aufgezählten Stoffen, beobachtet man Zusammenziehung oder Erweiterung der Blutgefäße ein und desselben Gefäßgebietes, je nachdem, wo der in Frage kommende Stoff eingespritzt wird, ob in eine Arterie oder in eine Vene. Von den von uns untersuchten Bauchorganen reagiert immer nur die Milz mit starker Zusammenziehung. Außerdem kann man auch hier zwei qualitativ einander

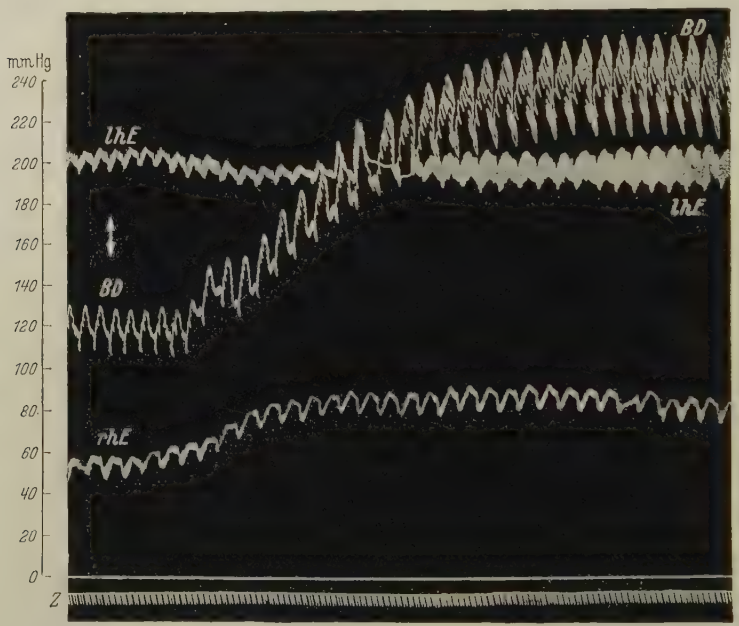


Abb. 5. 4. Februar 1941. Hund, 14,7 kg, ♀. *lhE* = linke hintere Extremität, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *rhE* = rechte hintere Extremität, 0 = Blutdrucknullniveau, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ↕ wurden 4 mg Veritol „Knoll" in die A. femoralis sinistra injiziert.

entgegengesetzte Veränderungen in den Gefäßgebieten bemerken: während die Blutgefäße der einen Extremitäten zusammengezogen sind, sind diejenigen der anderen Extremitäten erweitert.

Abb. 5 gibt das Ergebnis eines Versuches an einem Hund wieder, bei dem die Volumenveränderungen der beiden hinteren Extremitäten und die Veränderungen im Blutdruckniveau verzeichnet wurden. Man sieht, daß nach der Einspritzung von 4 mg Veritol „Knoll" (0,2 ccm aus einer Originalampulle) in die Arterie der linken hinteren Extremität eine leichte Zusammenziehung der Blutgefäße derselben Extremität eintritt,

während die Blutgefäße der rechten Extremität sich erweitern und der Blutdruck steigt. Auch hier beobachtet man unter der Einwirkung ein und desselben Stoffes zwei verschiedene Veränderungen in den Blutgefäßen der Extremitäten, nämlich Zusammenziehung bei denjenigen der einen Extremität und Erweiterung bei denjenigen der anderen.

6. Ergotaminum tartaricum.

Die Verabfolgung von Ergotamin in die Arterie einer Extremität verursacht Zusammenziehung der Blutgefäße dieser Extremität und Erweiterung der Blutgefäße der anderen drei Extremitäten. Seine Einführung in den unteren Teil der Aorta abdominalis bewirkt Zusammenziehung der Blutgefäße der hinteren Extremitäten und Erweiterung von denjenigen der vorderen Extremitäten.

Die Blutgefäße der Extremitäten sind recht empfindlich gegen Ergotamin bei seiner arteriellen Anwendung. Auch unter der Einwirkung sehr geringer Dosen erfolgt stark ausgeprägte Zusammenziehung der Blutgefäße. In einem Falle konnten wir bei Einspritzung von 0,2 mg Ergotaminum tartaricum (Gynergen Sandoz) in die Arterie einer Extremität eine Zusammenziehung der Blutgefäße derselben Extremität beobachten, die 7 Minuten dauerte, wonach im Verlaufe von 3 Minuten allmähliche Entspannung einsetzte, so daß die gesamte Reaktion der Gefäße 10 Minuten anhielt.

Die venöse Anwendung von Ergotamin ruft passive Erweiterung der Blutgefäße der Extremitäten hervor, die, je nach dem Grade der Blutdruckerhöhung, schwächer oder stärker ausgeprägt ist.

Kurz gesagt: Auch bei Verabfolgung von Ergotamin in den einen oder anderen Teil des Blutgefäßsystems reagieren die Blutgefäße auf verschiedene Art und Weise.

Besprechung der Ergebnisse.

Aus den oben dargelegten Tatsachen geht deutlich hervor, daß je nach der Stelle, an welcher der betreffende Stoff eingespritzt wird, zwei einander völlig entgegengesetzte Reaktionen der Blutgefäße beobachtet werden können. Die intravenöse Anwendung eines Stoffes gibt dem betreffenden Gefäßgebiet eine streng bestimmte Reaktion, während die intraarterielle Anwendung desselben Stoffes die entgegengesetzte Reaktion verursacht. Unter der Einwirkung eines Stoffes beobachtet man eine streng bestimmte Reaktion der Blutgefäße, zu denen dieser Stoff gelangt, bevor er durch das Herz geht, und qualitativ entgegengesetzte Reaktion von denjenigen Blutgefäßen, die der Stoff erreicht, nachdem er durch das Herz gegangen ist. Nur die Blutgefäße des Dünndarms reagieren unter der Einwirkung des intravenös angewendeten Adrenalins nicht auf streng bestimmte Weise, sondern sie können entweder mit Erweiterung oder mit

Zusammenziehung reagieren. Dieselben Blutgefäße reagieren unter bestimmten Bedingungen (vorhergehender Einspritzung eines anderen Stoffes) auf die intravenöse Einführung von Histamin mit Erweiterung, d. h. sowie auch auf seine intraarterielle Verabfolgung, mit anderen Worten, es tritt eine Umkehrung der Histaminwirkung ein, indem anstatt der einen Wirkung die gerade entgegengesetzte erfolgt. Eine solche Umkehrung wird bei der Anwendung keines anderen Stoffes beobachtet.

Im allgemeinen kann gesagt werden, daß ein gegebener Stoff nur dann eine spezifische Art der Wirkung auf die Blutgefäße hat, wenn er intraarteriell angewendet wird. In den Fällen, in denen ein Stoff venös eingeführt wird, erleiden die meisten Blutgefäße eine passive Veränderung. Nachdem der Stoff das Herz erreicht hat und als Folge hiervon das Blutdruckniveau sich verändert hat, wird die Blutanfüllung der Gefäßgebiete, durch die der Stoff, nachdem er durch das Herz gegangen ist, weiterzieht, von der Blutdruckveränderung beeinflußt; bei der Blutdruckerhöhung füllen sich die Blutgefäße mit mehr Blut an und es erfolgt passive Erweiterung; bei Absinken des Blutdruckes nimmt die Blutanfüllung der Blutgefäße ab und es tritt passive Zusammenziehung derselben ein. Aus diesem Grunde kann sich bei intravenöser Anwendung eines Stoffes seine spezifische Wirkung nicht zeigen. Eine Ausnahme in dieser Beziehung stellen die Blutgefäße der Nieren dar, die sowohl bei venöser wie auch bei aortaler Verabfolgung mit Zusammenziehung reagieren, aber nur auf Adrenalin. Unter der Einwirkung eines anderen venös angewendeten Stoffes reagieren die Blutgefäße der Nieren passiv, in Abhängigkeit von der Veränderung im Blutdruckniveau.

Aus dem bisher Dargelegten kann man den Schluß ziehen, daß die Blutgefäße im Körper unter der Einwirkung der oben erwähnten Stoffe auf zwei Arten reagieren: 1. spezifisch und 2. passiv. Eine spezifische Reaktion der Blutgefäße beobachtet man dann, wenn ein Stoff direkt zu dem Gefäßgebiet gelangt, bevor er durch das Herz geht, was bei intraarterieller und intraaortaler Anwendung oder bei Perfusionsversuchen an isolierten Organen oder Körperteilen beobachtet wird. Eine solche Art der Anwendung von Adrenalin, Ephedrin, Veritol und Ergotamin verursacht Zusammenziehung der Blutgefäße, und die der Verabfolgung von Histamin oder Azetylcholin ruft Erweiterung hervor. Passive Reaktion der Blutgefäße findet man dann, wenn der betreffende Stoff zu dem Gefäßgebiet gelangt, nachdem er durch das Herz gegangen ist, wie es bei subcutaner und intravenöser Einführung der Fall ist. Eine solche Anwendungsart verursacht umgekehrte Reaktion der Blutgefäße, und zwar bewirken Adrenalin, Ephedrin, Veritol und Ergotamin Erweiterung, und das Histamin und das Azetylcholin rufen Zusammenziehung der Blutgefäße hervor. Bei dieser Art der Verabfolgung, die eigentlich die gewöhnliche Art bei der Verwendung oder bei der Untersuchung verschiedener Stoffe ist, beeinflußt die Veränderung, die im Niveau des Blutdruckes eintritt, die Blutfüllung

der Blutgefäße, und die spezifische Art des Reagierens der letzteren kann nicht in Erscheinung treten. Sogar auch bei dem Gebrauch sehr geringer Dosen, die minimale Veränderungen im Niveau des Blutdruckes herbeiführen, werden die Blutgefäße passiv beeinflußt. So tritt z. B. bei der venösen Verabfolgung kleiner Dosen Adrenalin, Azetylcholin, Histamin usw., die das Blutdruckniveau nur um einige mm verändern, wieder eine rein passive Veränderung im Zustande der Blutgefäße ein.

Die Ergebnisse der Versuche zeigen, daß ein und derselbe Stoff Zusammenziehung oder Erweiterung der Blutgefäße hervorrufen kann. Das Bemerkenswerte in diesem Falle, das besonders hervorgehoben werden muß, ist der Umstand, daß bei der Einspritzung der gleichen Dosen Histamin oder Azetylcholin an verschiedenen Stellen des Blutgefäßsystems in bezug auf Größe gleiche Veränderungen im Niveau des Blutdruckes erhalten werden, unabhängig davon, daß die Blutgefäße großer Gefäßgebiete in einigen Fällen zusammengezogen, in anderen Fällen erweitert sind.

Die Einspritzung von Adrenalin in den Anfangsteil der Aorta abdominalis verursacht stark ausgeprägte Zusammenziehung der Blutgefäße der Bauchorgane und der Blutgefäße der hinteren Extremitäten. Trotzdem aber ist die Erhöhung des Blutdruckes geringer als bei der intravenösen Verabfolgung derselben Dosis Adrenalin.

Die Veränderungen im Blutdruckniveau stehen weder in ursächlicher Abhängigkeit mit der Art der Veränderungen in den Blutgefäßen, noch mit der Zeit des Eintretens der betreffenden Veränderung. So wurde vielfach Absinken des Blutdruckes und gleichzeitig hiermit passive Zusammenziehung der Blutgefäße (Azetylcholin, Histamin) beobachtet; ebenso gewahrte man Erhöhung des Blutdruckes und gleichzeitig damit Erweiterung der Blutgefäße großer Gefäßgebiete (Adrenalin, Ephedrin, Veritol).

Zusammenfassung.

Vermittels Versuchen an Hunden wurden die Veränderungen in den Blutgefäßen einiger Bauchorgane und der Extremitäten bei intravenöser und intraarterieller Anwendung von Adrenalin, Ephedrin, Histamin, Azetylcholin, Veritol und Ergotamin untersucht.

Die Wirkung der Verabfolgung des betreffenden Stoffes hängt vor allem von der Stelle ab, an der die Einspritzung vorgenommen wird. Ein und derselbe Stoff kann sowohl Zusammenziehung wie auch Erweiterung der Blutgefäße ein und desselben Gefäßgebietes hervorrufen, je nachdem, wo man einspritzt, ob in eine Vene oder in eine Arterie.

Bei der Einführung des betreffenden Stoffes in den Blutkreislauf reagieren die Blutgefäße entweder auf eine für diese Stoffe spezifische Weise, oder sie erleiden eine passive Veränderung, je nach der Stelle, an der die Einspritzung vorgenommen wird. Die Blutgefäße von denjenigen Gefäßgebieten, die der Stoff erreicht, bevor er durch das Herz gegangen ist,

reagieren auf eine für jeden Stoff streng bestimmte Art und Weise, während diejenigen Gefäße, zu denen der Stoff gelangt, nachdem er durch das Herz gegangen ist, nur eine passive Veränderung erfahren.

Bei der intraarteriellen Einführung von Adrenalin, Ephedrin, Veritol und Ergotamin erfolgt Zusammenziehung der Blutgefäße von denjenigen Gefäßgebieten, zu denen diese Stoffe gelangen, bevor sie das Herz erreichen, und Erweiterung der meisten übrigen Blutgefäße des Körpers. Bei intraarterieller Verabfolgung von Azetylcholin und Histamin tritt Erweiterung der Blutgefäße von denjenigen Gefäßgebieten ein, zu denen diese Stoffe gelangen, bevor sie das Herz erreichen, und Zusammenziehung der Blutgefäße von denjenigen Gefäßgebieten, zu denen diese Stoffe gelangen, nachdem sie durch das Herz gegangen sind. Eine Ausnahme hierin macht die Milz, die sich sowohl bei venöser wie auch bei arterieller Anwendung der genannten Stoffe zusammenzieht.

Bei intravenöser Einspritzung von Adrenalin, Ephedrin und Veritol erfolgt Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten, während die intravenöse Verabfolgung von Azetylcholin und Histamin Zusammenziehung der Blutgefäße derselben Gebiete hervorruft.

Zusammenziehung der Blutgefäße durch Adrenalin, Ephedrin und Veritol beobachtet man nur bei intraarterieller Verabfolgung, und sie tritt nur in denjenigen Gebieten ein, zu denen diese Stoffe direkt gelangen, bevor sie durch das Herz gegangen sind.

Erweiterung der Blutgefäße durch Azetylcholin und Histamin wird nur bei intraarterieller Anwendung beobachtet, und sie erfolgt nur in denjenigen Gebieten, welche diese Stoffe direkt erreichen, bevor sie durch das Herz gehen.

Zusammenziehung der Blutgefäße durch Adrenalin, Ephedrin und Veritol, sowie auch Erweiterung der Blutgefäße durch Azetylcholin und Histamin kann nur bei intraarterieller Anwendung dieser Stoffe, wie auch bei Perfusionsversuchen erfolgen. Die intravenöse Einspritzung dieser Stoffe am ganzen Tier hat die entgegengesetzte Wirkung.

Literatur.

1) Orahovats, D. P., u. T. Gotsev: Pflügers Arch. **235**, 367 (1935). — 2) Orahovats, D. P., u. S. Popoff: Jahrb. d. Med. Fakultät, Sofia **10**, 109 (1931). — 3) Orahovats, D. P.: Ebenda S. 75. — 4) Gotsev, T.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 31, 109 (1939); **194**, 596 (1940); **195**, 26 (1940). — 5) Klisiecki, A., u. W. Holobut: Ebenda **186**, 57 (1936). — 6) Gotsev, T.: Ebenda **181**, 207 (1936). — 7) Sturm, A., u. H. Dauter: Ebenda **185**, 368 (1937). — 8) Ferguson, J., A. C. Ivy u. H. Greengard: Amer. J. Physiol. **117**, 701 (1936).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Die Elastizitätsverhältnisse des arteriellen Systems am Starlingschen Herzlungenpräparat*.

Von

R. Knebel.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. Februar 1941.)

Das von Knowlton und Starling (1) geschaffene Herzlungenpräparat bietet die Möglichkeit, am isolierten Warmblüterherzen den Einfluß mechanischer und pharmakologischer Eingriffe auf die Dynamik und Energetik des Herzmuskels zu untersuchen. Unter den Kreislaufgrößen, welche die Arbeitsbedingungen des Herzens bestimmen, hat jedoch bisher der elastische Widerstand am Herzlungenpräparat kaum Beachtung gefunden, obwohl von E. A. Müller (12), Rein (11) und anderen auf die Notwendigkeit diesbezüglicher Untersuchungen hingewiesen wurde. Die Bedeutung der Elastizität des arteriellen Systems, insbesondere des zentralen arteriellen Windkessels, für den Kreislauf wurde von O. Frank und seiner Schule (2) richtig gewürdigt, mathematisch-physikalisch formuliert und experimentell geprüft. Der elastische Widerstand hat hiernach als eine für die Theorie des arteriellen Blutdruckes maßgebliche Kreislaufgröße zu gelten, eine Feststellung, die auch am Windkesselmodell des arteriellen Systems des Herzlungenpräparates nicht unberücksichtigt bleiben sollte. Der Weg für eine experimentelle Untersuchung (in dieser Richtung) ist durch die mathematisch-physikalische Formulierung des elastischen Widerstandes von O. Frank (3) vorgezeichnet. Die Ergebnisse der Untersuchung sind in der vorliegenden Mitteilung zusammengefaßt.

Der Volumenelastizitätskoeffizient E' des arteriellen Systems des Herzlungenpräparates.

Die elastischen Verhältnisse eines als Windkessel wirkenden Raumes sind nach O. Frank (3) durch seinen Volumenelastizitätskoeffizienten E' charakterisiert. Der Koeffizient wird definiert als Differenzenquotient von Druckzunahme ΔP nach Volumenzunahme ΔV

$$E' = \frac{\Delta P}{\Delta V}.$$

---

* Eingereicht zur Erlangung des Grades eines Dr. med. habil. in der medizinischen Fakultät der Universität Wien.

Wir bestimmen diesen Koeffizienten, indem wir in einem abgegrenzten elastischen Raum die Druckzunahme ΔP ermitteln, welche durch Einpressen eines bestimmten Volumens ΔV erzielt wird. Der Koeffizient steigt bei Abnahme und sinkt bei Zunahme der Speicherfähigkeit des Windkessels. Im natürlichen Kreislauf bildet die Aorta in ihrer Gesamtheit den wirksamen zentralen Windkessel, wobei die großen abgehenden Gefäße in ihrem Beginn noch mit einbezogen sein können, wie Wezler und Böger (4) durch Bestimmung der wirksamen Windkessellänge am Menschen nachweisen konnten.

In einem künstlichen Kreislauf, wie er im Herzlungenpräparat vorliegt, stellt das arterielle System in seiner Gesamtheit den wirksamen Wind-

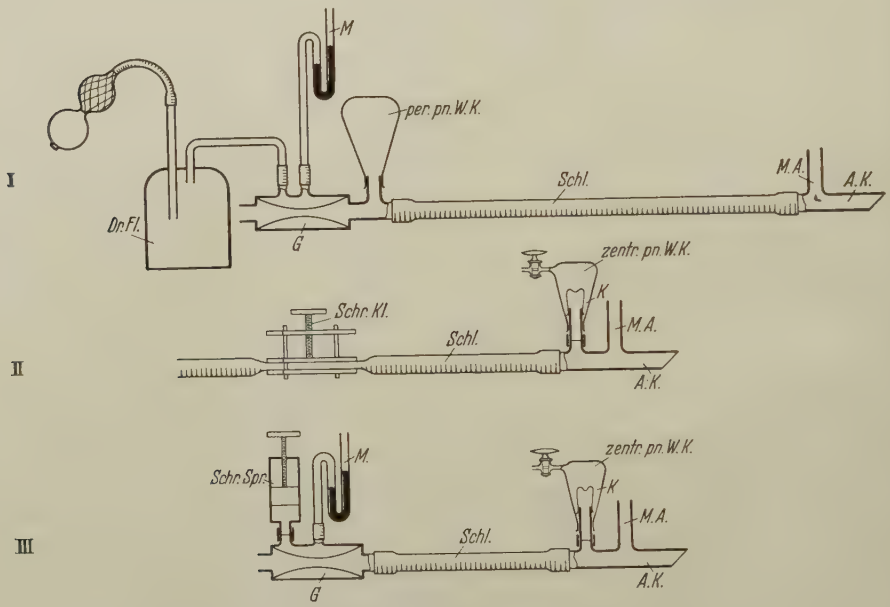


Abb. 1. I. Übliche Anordnung des arteriellen Systems des Herzlungenpräparates. II. Arterielles System mit Schraubklemme als „peripheren" Widerstand. III. Arterielles System mit „Starlingschem Widerstand" ohne Druckflasche.

A.K. = Arterielle bzw. Aortenkanüle. M.A. = Anschluß zum Manometer. Schl. = Schlauch. Per. pn. W.K. = peripherer pneumatischer Windkessel. Zentr. pn. W.K. = zentraler pneumatischer Windkessel. K. = Kondom. Schr.Kl. = Schraubklemme. G. = Gummifingerling in Glasmanschette. M. = Quecksilbermanometer. Dr.Fl. = Druckflasche. Schr.Spr. = Schraubenspritze. Angaben der Dimensionen im Text.

kessel dar, der durch die engste Stelle der Abflußbahn, d. i. im „peripheren Widerstand", begrenzt wird. Das arterielle System zerfällt hier in einzelne elastische Teilwiderstände, die hintereinandergeschaltet sind.

In der klassischen Anordnung nach Knowlton und Starling (l) (vgl. Abb. 1, I) befindet sich hinter der Arterienkanüle zuerst der als Windkessel wirkende Gummischlauch; am Ende dieses Schlauches ist ein pneumatischer Windkessel in Form eines Glaskolbens eingebaut. Als letzten

elastischen Teilwiderstand können wir den „Starlingschen Widerstand" ansehen: er besteht bekanntlich aus einem Gummifingerling, der in ein Glasrohr eingeschlossen ist und von einer Druckflasche aus mittels komprimierter Luft zusammengedrückt werden kann. Sobald die Luftkompression den „intraarteriellen" Druck im Fingerling übersteigt, wird der Querschnitt des Durchflusses verengt, der Widerstand erhöht.

In der geschilderten Anordnung haben wir ein verwickelt gebautes Windkesselsystem vor uns. Hier ist der reziproke Wert des Gesamtvolumenelastizitätskoeffizienten $E'_{totalis}$ nach Wezler und Böger (5) gleich der Summe der reziproken Werte der einzelnen Teilkoeffizienten anzusetzen:

$$\frac{1}{E'_{totalis}} = \frac{1}{E'_1} + \frac{1}{E'_2} + \frac{1}{E'_3} \cdots$$

Am natürlichen Kreislauf kann der wirksame Volumenelastizitätskoeffizient E' des Windkessels auf Grund der von O. Frank (6) aufgestellten Pulswellenlehre und mittels der Windkesselbegrenzung nach Wezler und Böger (4) bestimmt werden. Am Kreislaufmodell sind wir in der Lage, nach der oben gegebenen Definition des Volumenelastizitätskoeffizienten E' die bei jedem beliebigen Druck herrschenden Elastizitätsverhältnisse durch direkte Messung zu ermitteln.

Die Bestimmung des Volumenelastizitätskoeffizienten E' an einer Starlingschen Versuchsanordnung geschah in folgender Weise:

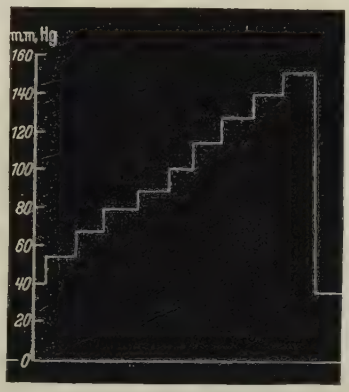


Abb. 2. Beispiel einer Eichung des elastischen Widerstandes am arteriellen System des Herzlungenpräparates. Siehe Text.

Das arterielle System wurde mit Wasser luftblasenfrei gefüllt und peripher vom Starlingschen Widerstand durch eine Klemme abgeschlossen, um auch den Teilkoeffizienten dieses Widerstandes in den Gesamtkoeffizienten einzubeziehen. Zur Registrierung des „intraarteriellen" Druckes diente ein Quecksilbermanometer, das mit der endständig verschlossenen Arterienkanüle verbunden war. Von der Kanüle aus wurden mit der Dauerinfusionsspritze nach Straub (7) — ausgehend von einem „intraarteriellen" Druck von etwa 40 mm Hg — stufenweise je 5 ccm Wasser in das System eingepreßt.

Abb. 2 zeigt die Druckänderungen, die dem Volumenzuwachs von je 5 ccm entsprechen. Der auf dem Gummifingerling des Starlingschen Widerstandes lastende Druck (Manschettendruck) betrug in diesem Falle 84 mm Hg. Um den dem jeweiligen „intraarteriellen" Druck zugehörigen Volumenelastizitätskoeffizienten E' in Dyn/cm^5 auszudrücken, ist der Wert jeder Druckzunahme in cm Hg mit 981 und dem spez. Gewicht des Quecksilbers 13,6 zu multiplizieren und durch 5 ccm zu dividieren.

Die Kurven des Diagramms Abb. 3 geben den Volumenelastizitätskoeffizienten E' als Funktion des „intraarteriellen" Druckes P wieder. Die Elastizitätsverhältnisse entsprechen hier einer Versuchsanordnung, welche an unserem Institut zu Versuchen am Herzlungenpräparat in üblicher Weise benutzt wird*.

Bei der ausgezogenen Kurve war die Luftkompression in der Druckflasche des Starlingschen Widerstandes auf 60 mm Hg, bei der unterbrochenen auf 120 mm Hg eingestellt. Aus diesen Kurven ersieht man, daß von einer einfachen Beziehung des Koeffizienten zum „intraarteriellen" Druck, wie sie im natürlichen Kreislauf gegeben ist**, keine Rede sein kann. Auf eine genauere Analyse des eigenartigen Verlaufes der Kurven soll nach Besprechung des folgenden Diagrammes eingegangen werden. Auffällig ist, daß sich beide Kurven in der Art ihres Ablaufes ähnlich verhalten;

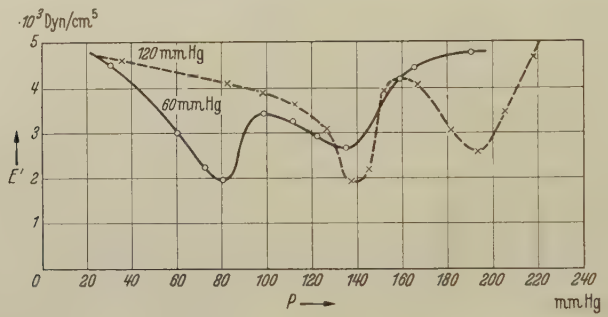


Abb. 3. Änderungen des Volumenelastizitätskoeffizienten E' bei steigendem „intraarteriellen" Druck und bei verschiedener Luftkompression (60 und 120 mm Hg) im „Starlingschen Widerstand". Siehe Text.

die Minima und Maxima rücken bei Erhöhung der Luftkompression im Starlingschen Widerstand in einen höheren Druckbereich. Die Werte beider Koeffizienten schwanken in einer Größenordnung von 1900 bis 2700 E'-Einheiten (Dyn/cm⁵). Wezler (8) gibt für den elastischen Widerstand des arteriellen Systems von Hunden Werte von 8000—25000 E'-Einheiten (Mittel: 16500) an; auch in eigenen, bisher nicht veröffentlichten Versuchen wurden an der Aorta von Hunden Werte in dieser Größenordnung festgestellt.

Die Werte des elastischen Widerstandes des Herzlungenpräparates weichen also nicht unerheblich von den natürlichen Elastizitätsverhältnissen des Hundekreislaufes ab. Von Wezler und Böger (9) werden für den elastischen Widerstand des Menschen für den Erwachsenen

* Die Schlauchlänge beträgt von der Aortenkanüle bis zum pneumatischen Winkdessel 90 cm, die lichte Weite 10 mm, die Wanddicke 2 mm. Der pneumatische Windkessel hat ein Fassungsvermögen von 200 ccm; die Druckflasche des Starlingschen Widerstandes faßt 500 ccm.

** Vgl. Wezler u. Böger, Abb. 76 u. 77; Erg. Physiol. **41**, 292 (1939).

1800 E'-Einheiten als Durchschnittswert angegeben, so daß man sagen kann, daß bei den künstlichen Kreislaufbedingungen der üblichen Herz-lungenpräparatanordnung der linke Ventrikel gegen einen elastischen Widerstand arbeitet, der eher den elastischen Verhältnissen einer menschlichen Aorta als dem zentralen Windkessel eines Hundes entspricht.

Um die Möglichkeit auszuschließen, daß das geschilderte elastische Verhalten durch eine zufällig gegebene Besonderheit der einen geprüften Versuchsanordnung bedingt sein könnte, wurden die Untersuchungen noch an einer zweiten im Institut vorhandenen Anordnung in genau gleicher Weise wiederholt. Bemerkt sei, daß diese zwei Anordnungen von verschiedenen Experimentatoren völlig unabhängig voneinander zusammengestellt worden waren.

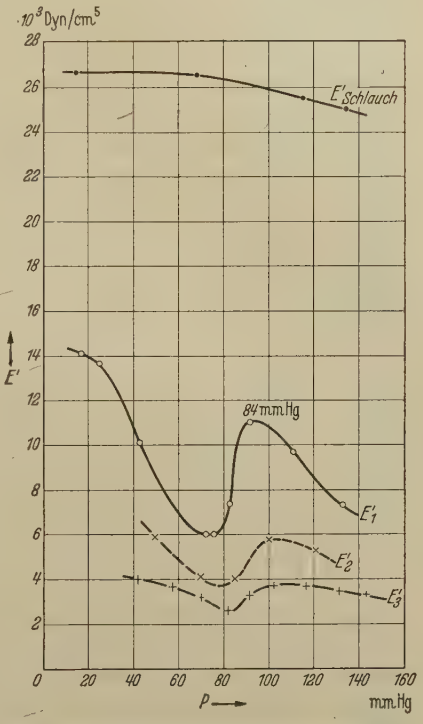


Abb. 4. Darstellung der elastischen Teil- und Gesamtwiderstände bei steigendem „intraarteriellen" Druck. Siehe Text.

Die im Diagramm Abb. 4 eingezeichnete Kurve E'_3 veranschaulicht das elastische Verhalten des arteriellen Systems bei einer Luftkompression von 84 mm Hg im Starlingschen Widerstand*. Die Luftkompression wurde deshalb auf 84 mm Hg eingestellt, weil dieser Wert während eines Tierversuches abgelesen worden war; der Blutdruck hatte in diesem Zeitpunkt 80 mm Hg betragen. Wie bei den Kurven in Abb. 2 sinkt zunächst der Volumenelastizitätskoeffizient E'_3 bei steigendem Blutdruck, bildet im Bereich von 80 mm Hg ein Minimum und steigt dann bei weiterer Zunahme des „intraarteriellen" Druckes wieder an. Das Minimum fällt hier mit dem während des Versuches gemessenen Blutdruck von 80 mm Hg zusammen. Auch bei dieser Versuchsanordnung schwanken die Werte des Koeffizienten in einem Bereich von 2500—3900 E'-Einheiten; sie liegen also auch bei der zweiten Versuchsanordnung wesentlich niedriger als am natürlichen Kreislauf von Hunden.

* Von dieser Apparatur stammen die in der folgenden Mitteilung (Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 496 (1941) abgebildeten Pulsdruckkurven. Die Schlauchlänge beträgt hier 80 cm, die lichte Weite 9 mm, der pneumatische Windkessel hat ebenfalls ein Fassungsvermögen von 200 ccm, die Druckflasche des Starlingschen Widerstandes faßt dagegen 1 Liter.

Um den eigenartigen Verlauf der E'-Kurven einer Analyse näherbringen zu können, wurde einmal der Teilkoeffizient des Schlauches (E'_{Schlauch}) bestimmt, dann der elastische Gesamtwiderstand ohne (E'_1) und mit einem pneumatischen Windkessel von 100 ccm Rauminhalt (E'_2). Das Ergebnis ist gleichfalls in dem Diagramm Abb. 4 wiedergegeben. Die Kurven E'_1 und E'_2 wurden, um mit E'_3 vergleichbar zu sein, auch bei einer Luftkompression von 84 mm Hg im Starlingschen Widerstand ermittelt. Bei der Betrachtung des elastischen Teilwiderstandes des Schlauches (Kurve E'_{Schlauch}) ist auffällig, daß der Volumenelastizitätskoeffizient bei steigendem „intraarteriellen" Druck von 26500 auf 2500 E'-Einheiten absinkt, denn der Volumenelastizitätsmodul des Gummis nimmt mit wachsender Spannung zu, so daß auch eine Zunahme des Volumenelastizitätskoeffizienten zu erwarten wäre. Nach O. Frank (10) verläuft die Modulspannungskurve einer Gummiplatte im Vergleich zu der einer Leichenaorta außerordentlich flach. Da sich der Volumenelastizitätskoeffizient E' außer der oben angegebenen Definition nach O. Frank (3) auch durch den Quotienten Volumenelastizitätsmodul $\varkappa$ zu Windkesselvolumen V ausdrücken läßt, so besteht die Beziehung

$$E' = \frac{\Delta P}{\Delta V} = \frac{\varkappa}{V}$$

Es wird nach dieser Formulierung verständlich, daß der Koeffizient E' auch bei Zunahme des Moduls $\varkappa$ abnehmen kann, wenn das Windkesselvolumen in stärkerem Maße zunimmt, als der Modul anzeigt. Diese wichtige Beziehung erklärt auch das auf den ersten Blick eigenartige Verhalten der übrigen E'-Kurven.

Bei ausgeschaltetem pneumatischen Windkessel (Kurve E'_1, Abb. 4) nimmt der Koeffizient zunächst mit steigendem „intraarteriellen" Druck von 14000 auf 5800 E'-Einheiten ab und steigt dann zwischen 70—80 mm Hg bis auf 11000 E'-Einheiten an; schließlich fällt er bei weiter steigendem Blutdruck wieder ab. Der Modul des Gummifingerlings im Starlingschen Widerstand wird bei steigendem „intraarteriellen" Druck solange abnehmen bzw. wird seine Wand so lange entspannt, bis der „intraarterielle" Druck gleich der Luftkompression im Starlingschen Widerstand ist. Da nun der Modul abnimmt, während das Windkesselvolumen infolge der Infusion in das arterielle System stetig ansteigt, läßt sich die Abnahme des Koeffizienten im Beginn der E'-Kurven zwanglos erklären und es wird damit verständlich, warum das erste Minimum der in Abb. 3 wiedergegebenen E'-Kurven bei höherer Kompression des Fingerlings in einen höheren „intraarteriellen" Druckbereich verschoben wird. Das Minimum kommt mit und ohne pneumatischen Windkessel zur Geltung.

Für die üblichen Versuche am Herzlungenpräparat ist in erster Linie der erste absteigende Abschnitt der E'-Kurven von Bedeutung. Da der elastische Widerstand, wie aus den E'-Kurven ersichtlich ist, im Bereich

niederer „intraarterieller" Drucke wesentlich größer ist als bei höheren Druckwerten, kann besonders bei hohen Blutdruckamplituden der Fall eintreten, daß der elastische Widerstand für den systolischen Druck beträchtlich niederer liegt als für den diastolischen Druck. Da nun die Beziehung besteht $\Delta P = E' \cdot \Delta V$, d. h. die Höhe der Blutdruckamplitude aus dem Volumenelastizitätskoeffizienten E' und dem Speichervolumen des Windkessels ΔV resultiert, ist der Starlingsche Widerstand u. a. in der Lage, eine Erhöhung der Druckamplitude infolge Zunahme des Schlag- bzw. Minutenvolumens durch gleichzeitige Abnahme des elastischen Widerstandes weitgehend zu kompensieren.

Der weitere Verlauf der E'-Kurven läßt sich nur durch ein verschieden starkes Ansteigen des Gesamtmoduls $\varkappa$ im Vergleich zu dem stetig ansteigenden Windkesselvolumen V erklären, wobei auch hier berücksichtigt werden muß, daß nach Wezler und Böger (5) der reziproke Wert des Gesamtmoduls $\varkappa_{totalis}$ gleich der Summe der einzelnen reziproken Werte der Teilmoduln bei hintereinander geschaltetem System anzusetzen ist.

Der Vorteil, den das Herzlungenpräparat gegenüber Untersuchungen am intakten Kreislauf bieten soll, wird darin gesehen, daß man die einzelnen Kreislaufgrößen unabhängig voneinander ändern kann, um deren Einfluß auf die Dynamik oder Energetik des Herzmuskels zu untersuchen. Eine dieser Größen, die allerdings bisher am Herzlungenpräparat noch kaum berücksichtigt wurde, ist der elastische Widerstand. In der ursprünglichen Anordnung von Knowlton und Starling (1) sind wir nicht in der Lage, die Wirkungen von Änderungen des elastischen Widerstandes auf die Dynamik und Energetik des Herzmuskels zu untersuchen, da der Volumenelastizitätskoeffizient E', wie aus den beschriebenen Diagrammen der Abb. 2 und 3 ersichtlich war, in einer verwickelten Beziehung zum „intraarteriellen" Druck steht. Der elastische Widerstand wechselt bei jeder Strömungsänderung und bei jeder Änderung des peripheren Widerstandes in nicht kontrollierbarer Weise. In der folgenden Mitteilung* wird gezeigt werden, daß infolge der ungewöhnlich niederen Werte für den elastischen Widerstand Resonanzpulse auftreten können, die sogar eine Bestimmung des mittleren arteriellen Druckes und demzufolge die Berechnung der Herzarbeit bzw. des Wirkungsgrades völlig unmöglich machen.

Aus den bisherigen Darlegungen ergibt sich eindeutig, daß bei den Elastizitätsverhältnissen am Starlingschen Herzlungenpräparat in seiner üblichen Anordnung eine Berücksichtigung und Wertung des als Kreislaufgröße wichtigen elastischen Widerstandes nicht möglich ist. Es wurde daher versucht, die Apparatur so abzuändern, daß der Volumenelastizitätskoeffizient E' in einer einfachen Beziehung zum „intraarteriellen" Druck steht und eine Größenordnung aufweist, die den Kreislaufverhält-

* Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 496 (1941).

nissen am Hunde entspricht. Zu diesem Zwecke wurde der pneumatische Windkessel unmittelbar seitenständig an die Arterienkanüle angeschlossen und sein Fassungsvermögen mit nur 50 ccm bemessen; die Luft des pneumatischen Windkessels war von dem Blute durch ein Kondom getrennt, um eine Absorption des in dem pneumatischen Windkessel vorhandenen Sauerstoff zu verhindern (vgl. Abb. 1, II). An die Stelle des Starlingschen Widerstandes trat eine mit Mikrometergewinde ausgestattete, somit sehr fein einstellbare Schraubklemme, die an der arteriellen Schlauchleitung 20 cm peripher von der Arterienkanüle angesetzt war; die Länge des Gummischlauches wurde dadurch auf 20 cm gekürzt*.

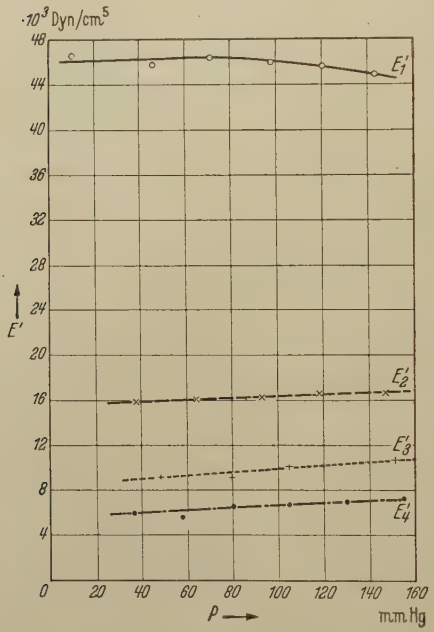


Abb. 5. Das Verhalten verschiedener elastischer Gesamtwiderstände bei steigendem „intraarteriellen" Druck nach Austausch des „Starlingschen Widerstandes" gegen einen Klemmwiderstand. Siehe Text.

Die grundlegende Änderung der Elastizitätsverhältnisse, die durch die geschilderte Anpassung der Versuchsordnung erreicht wurde, geht klar aus einem Vergleich von Abb. 5 mit Abb. 3 und 4 hervor.

Die Kurve E'_2 des Diagramms der Abb. 5 gibt den elastischen Widerstand eines derart abgeänderten arteriellen Systems des Herzlungenpräparates wieder (pneumatischer Windkessel 50 ccm**); er ist in weitem Druckbereich als konstant anzusehen. Die Größenordnung von etwa 16000 E'-Einheiten entspricht den Kreislaufverhältnissen, wie sie in der Aorta von Hunden nach Wezler durchschnittlich bestehen (vgl. oben S. 488). Die Kurve E'_3 zeigt den Gesamtkoeffizienten mit einem pneumatischen Windkessel von 100 ccm und die Kurve E'_4 von 200 ccm Inhalt. Durch die Kurve E'_1 ist der Teilkoeffizient des 20 cm langen Gummirohres dargestellt. Seine lichte Weite beträgt 9 mm, seine Wanddicke

* Die gleichen Dienste würden die von Rein (11) benutzten, parallel geschalteten Gummischläuche mit engem Lumen leisten, wie uns Versuche gezeigt haben, doch fanden wir die Anordnung mit der Schraubklemme für unsere Zwecke handlicher. Die Einschaltung eines pneumatischen Windkessels ließe sich nach dem Vorgehen von E. A. Müller (12) durch Verwendung eines dünnwandigen Gummischlauches ersparen. Derzeit sind derartige Schläuche aber nicht zu beschaffen und sie wären für den vorliegenden Versuchszweck auch insofern weniger geeignet als ein pneumatischer Windkessel, weil sich der Einfluß von Änderungen des elastischen Widerstandes auf die Herzleistung nur durch einen ein- und ausschaltbaren Windkessel in übersichtlicher Weise untersuchen läßt.

** Vgl. Abb. 1, II.

2 mm. Wie der Teilkoeffizient des 80 cm langen Schlauches (vgl. Abb. 3 E'_{Schlauch}) sinkt er ebenfalls mit steigendem Druck, aber im Vergleich zu diesem nur geringfügig, da sein Fassungsvermögen bedeutend geringer ist. Der Modul steigt auch hier weniger stark an als der Rauminhalt, so daß sich, wenn auch nur gering, eine Senkung der Kurve ergibt. Der 80 cm lange Schlauch mit dem durchschnittlich gemessenen Volumenelastizitätskoeffizienten von 26000 E'-Einheiten würde noch einen im natürlichen Kreislauf des Hundes möglichen Wert darstellen; der 20 cm lange Schlauch mit seinem Wert von etwa 46000 E'-Einheiten bietet Elastizitätsverhältnisse, wie sie in der Hundeaorta bisher nicht beobachtet worden sind. Dennoch übt auch der kurze Schlauch eine windkesselähnliche Funktion aus, wie in der folgenden Mitteilung gezeigt werden wird.

Die Anwendung einer Schraubklemme als peripherer Widerstand bietet insofern Schwierigkeiten, als schon geringste Drehungen an der Schraube starke Änderungen des peripheren Strömungswiderstandes hervorrufen können. Man kann aber durch Anwendung einer Mikrometerschraube, durch Vergrößerung der Pelotte, die den Schlauch zusammendrückt und durch geeignete Wahl eines dickwandigen Gummischlauches die Empfindlichkeit weitgehend herabsetzen. Trotzdem bleibt auch dann noch gegenüber dem Starlingschen Widerstand der Nachteil, daß jede Änderung des Minutenvolumens zu einer verhältnismäßig starken Änderung des Blutdruckes führt, die bei plötzlichem und unerwartetem Auftreten nicht mit der wünschenswerten Schnelligkeit an der Klemmschraube ausreguliert werden kann, falls der mittlere Blutdruck konstant gehalten werden soll. Bei unseren Versuchen kam dies nicht zur Geltung, da das Minutenvolumen innerhalb der einzelnen Versuchsabschnitte unverändert blieb; hingegen ist insbesondere bei pharmakologischen Versuchen durchaus mit solchen Schwierigkeiten zu rechnen.

Wir haben daher noch weiter den Versuch unternommen, als Widerstand einen Starlingschen Widerstand ohne Druckflasche mit sehr straff gespanntem Gummifingerling einzusetzen. Zur Kompression des Gummifingerlings wurde mit Hilfe einer 2 ccm fassenden Injektionsspritze, deren Stempel durch ein Schraubgewinde geführt war, Luft in den Glasmantel, der den Fingerling umgibt, eingepreßt (vgl. Abb. 1, III). Dadurch war eine viel weniger empfindliche und handlichere Widerstandsregelung möglich als mit der Schraubklemme.

Auch diese Anordnung hat für den vorliegenden Versuchszweck den Nachteil, daß ein derartiger „elastischer Widerstand" in den elastischen Gesamtwiderstand des arteriellen Systems mit einbezogen werden muß. Um nun durch Eichung des gesamten elastischen Widerstandes die während eines Versuches herrschenden Zustände reproduzieren zu können, muß man von dem während eines Versuches jeweils beobachteten Blutdruckwert und der dazugehörigen Luftkompression auf den Gummifingerling, dem „Manschettendruck", ausgehen. Die Eichung findet dann in der für

Abb. 2 angegebenen Weise statt. Als Beispiel sei das Diagramm in Abb. 6 angeführt.

Die in den Kurven von Abb. 6 eingetragenen Zahlen geben den zu jedem Wert gehörenden „Manschettendruck" an. Als Verbindung zwischen Aortenkanüle und Widerstand wurde der gleiche Gummischlauch (Länge 20 cm) benutzt wie in der Anordnung mit der Schraubklemme. Die Kurven E'_2 und E'_3, die bei Einschalten eines pneumatischen Windkessels von 50 ccm Rauminhalt gewonnen sind, zeigen, daß trotz wechselndem „Manschettendruck" der Gesamtvolumenelastizitätskoeffizient des arteriellen Systems bei steigendem „intraarteriellen" Druck als annähernd konstant angesehen werden kann.

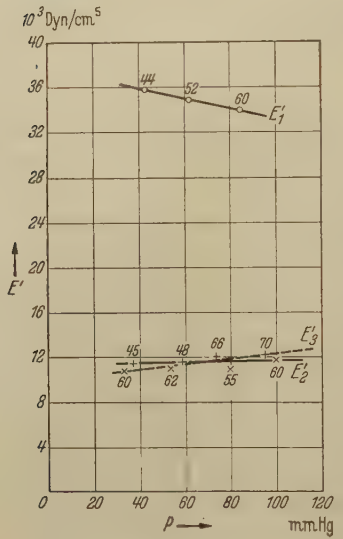


Abb. 6. Bestimmung elastischer Widerstände bei Verwendung eines „Starlingschen Widerstandes" ohne Druckflasche bei steigendem „intraarteriellen" Druck. Die Zahlenangaben an den Kurven bedeuten „Manschettendrucke" in mm Hg. Siehe Text.

Die Kurve E'_1 wurde bei ausgeschaltetem pneumatischem Windkessel gewonnen. Vergleicht man diese Kurve mit der Kurve E'_1 in Abb. 5, durch welche das Verhalten des elastischen Teilwiderstandes des Gummischlauches wiedergegeben ist, so sieht man, daß durch Einbeziehen des „elastischen" peripheren Widerstandes der Durchschnittswert des Koeffizienten von etwa 45000 auf 35000 E'-Einheiten herabgesetzt wird. Bei Anwendung der Schraubklemme ist der elastische Widerstand auch in den hohen Bereichen, die er nach Ausschaltung des pneumatischen Windkessels erlangt, praktisch konstant; bei dem hier angewandten „elastischen" peripheren Widerstand hingegen sinkt der Elastizitätskoeffizient in dem „intraarteriellen Druckbereich" von 40—90 mm Hg von 36000 auf 24000 E'-Einheiten ab, während der „Manschettendruck" von 44 auf 60 mm Hg ansteigt.

Zusammenfassung.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die elastischen Verhältnisse des Herzlungenpräparates in seiner klassischen Form nicht zu Untersuchungen des Einflusses von Elastizitätsänderungen auf die anderen Herz- und Kreislaufkonstanten geeignet sind. Der elastische Widerstand des gesamten arteriellen Systems ändert sich bei steigendem Blutdruck in einer von den natürlichen Verhältnissen durchaus abweichenden Art und ist im Vergleich zum Kreislauf des Hundes abnorm niedrig. Da die von der Norm abweichenden Kreislaufverhältnisse vor allem durch die

Konstruktion des „Starlingschen Widerstandes" bedingt sind, der die Windkesselfunktionen des elastischen Gesamtwiderstandes maßgebend beeinflußt, erscheint es zweckmäßig, falls elastische Faktoren berücksichtigt werden sollen, entsprechend konstruierte „periphere Widerstände" einzusetzen. Durch die Wahl geeigneter Dimensionen des arteriellen Systems ist man in der Lage, den elastischen Widerstand in gewünschter Weise einzustellen und unabhängig von den anderen Kreislaufgrößen so zu ändern, daß sein Einfluß auf die Dynamik und Energetik des Herzmuskels untersucht werden kann.

Literatur.

1) Knowlton, F. P., u. E. H. Starling: J. Physiol. (Brit.) **44**, 206 (1912). — 2) Literaturangaben s. Wezler, K. u. A. Böger, Erg. Physiol. usw. **41**, 295 (1939). — 3) Frank, O.: Z. Biol. **71**, 256 (1920); **85**, 102 (1926); **88**, 105 (1928). — 4) Wezler, K., u. A. Böger: Z. Kreisl.forsch. **28**, 391 (1936). — 5) Wezler, K., u. A. Böger: Erg. Physiol. usw. **41**, 446 (1939). — 6) Frank, O.: Z. Biol. **71**, 271 (1920). — 7) Straub, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 456 (1937). — 8) Siehe Tabelle 67 auf S. 548 von K. Wezler und A. Böger: Erg. Physiol. usw. **41**, 548 (1939). — 9) Wezler, K., u. A. Böger: Ebenda S. 549. — 10) Frank, O.: S.ber. Ges. Morph. u. Physiol. Münch. **1926** u. **1928**. — 11) Rein, H.: Ges. Wiss. Göttingen, Math.-Phys. Kl. Nachr. Biol. **3**, 209 (1939). — 12) Müller, E. A.: Pflügers Arch. **243**, 241 (1940); Erg. Physiol. usw. **43**, 89 (1940).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Über den Einfluß des elastischen Widerstandes auf die Kreislaufverhältnisse am Herzlungenpräparat.

Von

R. Knebel.

Mit 8 Textabbildungen (14 Einzelbildern).

(Eingegangen am 9. Februar 1941.)

In der vorhergehenden Mitteilung (1) wurde der elastische Widerstand einiger arterieller Systeme von Apparaturen des Herzlungenpräparates untersucht. Es ließ sich zeigen, daß infolge der Konstruktion des „Starlingschen Widerstandes" der elastische Widerstand des gesamten arteriellen Systems in einer verwickelten Beziehung zum „intraarteriellen" Druck steht; durch Austausch gegen geeignete „periphere Widerstände" konnten einfache und übersichtliche Elastizitätsverhältnisse erzielt werden. Das Einschalten verschieden großer pneumatischer Windkessel in das arterielle System gestattete ferner, den elastischen Widerstand unabhängig von den anderen Kreislaufgrößen zu ändern.

Durch diese Voruntersuchungen an der Apparatur war die Möglichkeit gegeben, den Einfluß des elastischen Widerstandes auf die Form der Pulskurve, die Höhe des arteriellen Druckes und die Herzleistung am Herzlungenpräparat quantitatv zu erfassen.

Methodik.

Der Einfluß des elastischen Widerstandes des arteriellen Systems auf die verschiedenen Kreislaufgrößen wurde z. T. am Herzlungenpräparat nach Knowlton und Starling (2) (H.L.P.), z. T. an der von Dusser de Barenne (3) angegebenen Modifikation des Herzlungenpräparates (B) untersucht.

Das Herzlungenpräparat nach Starling wurde in der üblichen Weise an Hunden (Gewicht 8—15 kg) in Morphin-Chloralose-Narkose (0,005 g/kg; 0,08 g/kg) durchgeführt. Die Abmessungen des arteriellen Teiles der Apparatur sind in der vorhergehenden Mitteilung (S. 488) angegeben. Die arterielle Kanüle (lichte Weite 8 mm) wurde in die Aorta nahe den Klappen eingebunden, um die unbekannte Windkesselwirkung des Aortenbogens möglichst auszuschalten.

Zu den Versuchen in der Anordnung von Dusser de Barenne, die bekanntlich die Messung der gesamten Coronardurchblutung und damit auch des Gesamt-Minutenvolumens ermöglichen, wurden als arterielles System die auf S. 492 beschriebenen Widerstandsanordnungen benutzt. Die Eichung des elastischen Widerstandes aller arterieller Systeme erfolgte in der dort angegebenen Weise.

Der venöse Zufluß wurde mittels einer Dale-Schuster-Pumpe (4) konstant gehalten. Am Herzlungenpräparat nach Starling war die Pumpe mit der Ven. cav. sup., an dem Präparat nach Dusser de Barenne mit der Arteria pulm. ver-

bunden. Zwischen Pumpe und Ven. cav. sup. bzw. Art. pulm. war eine Weese-Stromuhr (5) eingeschaltet, die den venösen Zufluß fortlaufend registrierte.

Der arterielle Druck wurde in allen Versuchen seitenständig von der Aortenkanüle aus mit einem optischen Federmanometer nach O. Frank (6) registriert. Durch die notwendige Bleirohrverbindung von der Aortenkanüle bis zur Glasröhre des Manometers war die Eigenschwingung des Manometers auf $N = 80$ herabgesetzt. Die Empfindlichkeit betrug 2 cm/100 mm Hg, die Papiergeschwindigkeit 4 cm/Sek.

I. Über den Einfluß des elastischen Widerstandes auf die Form der Pulskurve.

Der elastische Widerstand kann die Form der Pulskurve weitgehend beeinflussen.

Als Beispiel dienen die Pulskurven der Abb. 1. Hier wurde der elastische Widerstand durch Einsetzen verschieden großer pneumatischer

Tabelle 1. Analysenwerte zu den Pulskurven der Abb. 1.

Versuchsnummer	E' $\cdot 10^3$ Dyn/cm^5	Systole σ	Periode σ	T σ
H.L.P. V4				
N 7d	46,5	171	520	—
N 7a	16,0	166	522	148
N 7c	9,0	170	521	—
N 6b	5,5	—	554	—

Abb. 1. Einfluß des elastischen Widerstandes (E') auf die Pulsform. Bei Puls N 7a Hervortreten der Eigenschwingung des arteriellen Systems (T). Bei Abnahme von E' Auftreten von dikroten und hyperdikroten Pulsformen. Minutenvolumen (500 ccm) und peripherer Widerstand (Schraubklemme) konstant. Zeitmarkierung $^1/_4$ Sek. Siehe Text.

Windkessel in das arterielle System verändert. Die Pulskurven der Abb. 1 stammen von ein und demselben Versuch; sie wurden bei konstantem

Minutenvolumen von 500 ccm gewonnen. Der bei einem Volumenelastizitätskoeffizienten von 46500 E'-Einheiten aufgenommene Puls N 7 d zeigt die ideale Form einer zentralen Pulskurve, wie sie O. Frank (7) an seinem physikalischen Windkesselmodell experimentell abgeleitet hat; ihr Druckablauf ist durch keine Reflexionen und Eigenschwingungen des arteriellen Systems gestört, wenn man von den Schwingungen der Inzisur absieht, die durch den Schluß der Semilunarklappen hervorgerufen sind. Der Druckabfall im diastolischen Teil der Pulskurve hat entsprechend der mathematischen Formulierung von O. Frank (7) die Form einer Exponentialkurve. Am natürlichen Kreislauf wird diese Form des zentralen Pulsbildes durch das Auftreten von stehenden Wellen entstellt, die infolge der niedrigen Eigenschwingungen des Arterienrohres entstehen [O. Frank (8)].

Auch das arterielle System des Herzlungenpräparates besitzt eine Eigenschwingung, die dann in Erscheinung tritt, wenn der elastische Widerstand auf einen Wert herabgesetzt wird, welcher dem natürlichen Kreislauf des Hundes entspricht. Dann verändert sich das Pulsbild derart, daß die Form der Pulskurve dem Bild am natürlichen Kreislauf gleicht. Als Beispiel sei auf die Kurve N 7a in Abb. 1 verwiesen, die bei dem elastischen Widerstand von 16000 E'-Einheiten aufgenommen wurde; das entspricht etwa dem von Wezler (9) an Hunden gefundenen Durchschnittswert von 16500 E'-Einheiten. Die in Abb. 1, Puls N 7a, eingezeichnete Eigenschwingung T beträgt 148 σ. In einem anderen Versuch, Abb. 5, Puls N 5, ist die Eigenschwingung T auch bei dem hohen Volumenelastizitätskoeffizienten von 44800 E'-Einheiten zu erkennen, jedoch beeinflußt sie infolge ihrer kurzen Dauer von 104 σ den Ablauf der Diastole nicht wesentlich. Eine weitere Herabsetzung des elastischen Widerstandes von 16000 auf 9000 E'-Einheiten verlängert die Dauer der Eigenschwingung so weitgehend, daß nur noch ein Teil der Grundschwingung in den diastolischen Abschnitt der Pulskurve fällt. Eine bemerkenswerte Veränderung der Pulskurven bei Abnahme des elastischen Widerstandes wird auch durch das Tiefertreten der Inzisur hervorgerufen; in der Pulskurve N 7c der Abb. 1 liegt die Inzisur in Höhe der Grundlinie des Pulses. Wäre die Eigenschwingung des arteriellen Systems nicht vorhanden, so würde die Diastole horizontal verlaufen. Von O. Frank und Mitarbeitern (10) wurden nach Inhalation von Amylnitrit und von Wezler und Knebel (11) mittels des Valsavaschen Preßversuches am Menschen zentrale Pulskurven registriert, die dem Puls N 7c der Abb. 1 weitgehend gleichen. Wie bei der Pulskurve N 7c wurde beim Valsavaschen Preßversuch die Anfangsschwingung im aufsteigenden Teil der Systole Hauptmaximum des Pulses. In den erwähnten Versuchen am Menschen wurde durch gleichzeitige Registrierung des Femoralispulses nachgewiesen, daß bei dieser Form von Pulskurven die Systolendauer genau der halben Dauer der Grundschwingung T der Aorta entspricht. Man ist daher berechtigt,

von einer Resonanz der zentralerregenden Schwingung (gegeben durch die Systolendauer) mit der 1. Oberschwingung des arteriellen Systems zu sprechen.

Überträgt man die Pulsform auf das Bild des menschlichen Radialispulses, so kann man hier von einem dikroten Puls sprechen; der Puls N 6b der Abb. 1 bei einem Elastizitätskoeffizienten von 5500 E'-Einheiten wäre dann als ein hyperdikroter Puls zu bezeichnen. O. Frank (10) hat den dikroten und hyperdikroten Radialispuls als einen Resonanzpuls gedeutet. Wezler und Greven (12) haben ganz allgemein die Entstehung des dikroten und hyperdikroten Pulses untersucht und gezeigt, daß Resonanzpulse entstehen, wenn sich entweder die erregende Schwingung, d. h. die Systolendauer, oder die Eigenschwingung des Arterienrohres unabhängig voneinander, gleichsinnig oder auch gegensinnig ändern. Beim Herzlungenpräparat des denervierten Herzens kann bei gleichbleibender Bluttemperatur und bei unverändertem Schlagvolumen die Systolendauer als annähernd konstant angesehen werden, wie auch aus der Tabelle der Abb. 1 hervorgeht. Hier ist die variable Größe die Grundschwingung des arteriellen Systems bei Änderungen des elastischen Widerstandes; die Abhängigkeit der Eigenschwingungsdauer von dem Volumenelastizitätskoeffizienten E' bzw. von dem Elastizitätsmodul geht aus den hier abgebildeten Pulskurven deutlich hervor.

Der elastische Widerstand beeinflußt demnach maßgeblich den Ablauf der Pulskurve am Herzlungenpräparat; er kann Resonanzerscheinungen und damit dikrote und hyperdikrote Pulsformen hervorrufen. Die Resonanzpulse können den Druckablauf entstellen und die Höhe des diastolischen und systolischen Druckes derart fälschen, daß der Blutdruck nicht mehr gemessen werden kann; auf diese Zusammenhänge wird im folgenden Abschnitt an Hand von Beispielen näher eingegangen werden.

II. Über den Einfluß des elastischen Widerstandes auf die Höhe des arteriellen Blutdruckes.

Bei Versuchen an Herzlungenpräparaten, die in der klassischen Anordnung nach Knowlton und Starling (2) zu anderen Zwecken an unserem Institut durchgeführt worden waren, fiel auf, daß der mit dem Quecksilbermanometer registrierte Blutdruck beim Ausschalten des pneumatischen Windkessels absank; auch die mit dem Manometer verzeichnete Amplitude nahm an Höhe ab. Nun wird aber durch das Ausschalten des pneumatischen Windkessels der Volumenelastizitätskoeffizient E' des arteriellen Systems heraufgesetzt, so daß nach den von O. Frank (13) aufgestellten Prinzipien für die Theorie des arteriellen Blutdruckes eine Zunahme der Amplitude zu erwarten gewesen wäre.

Um das von der Theorie abweichende Verhalten zu klären, wurde der arterielle Blutdruck optisch registriert. In Abb. 2, Puls N 3a ist eine

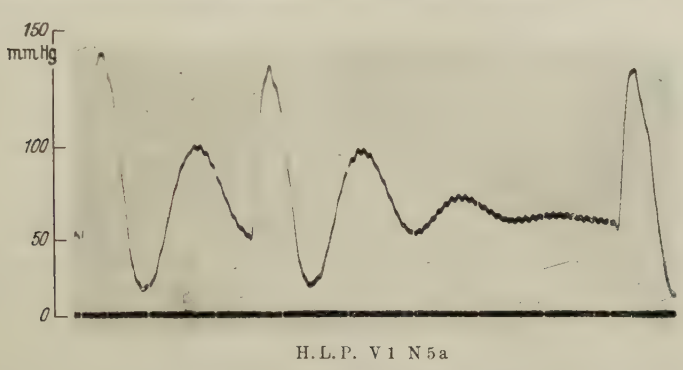
derartig aufgenommene Pulsdruckkurve bei eingeschaltetem und in Puls N 3b bei abgeklemmtem pneumatischem Windkessel wiedergegeben. Für die mittlere Amplitudenhöhe beider Pulskurven wurde für den elastischen Widerstand bei eingeschaltetem pneumatischem Windkessel ein Wert von 3000, bei ausgeschaltetem ein Wert von 5800 E'-Einheiten erhoben. Die Pulskurve N 3a unterscheidet sich wesentlich von einer normalen Pulskurve. Der Beginn der Herzperiode ist durch einen Pfeil markiert. Es treten bei den hier herrschenden Elastizitätsverhältnissen Schwingungen des arteriellen Systems auf, die auf Resonanzerscheinungen hinweisen. Beim Ausschalten des pneumatischen Windkessels (Abb. 2,

Abb. 2. Auftreten von Resonanzpulsen infolge niederen elastischen Widerstandes (E') bei der üblichen Anordnung des arteriellen Systems. Bei Puls N 3a peripherer pneumatischer Windkessel eingeschaltet, bei Puls N 3b ausgeschaltet. Pfeil: Beginn der Austreibung. Minutenvolumen konstant (500 ccm). Zeitmarkierung $^1/_4$ Sek. Siehe Text.

Puls N 3b) und der damit verbundenen Erhöhung des elastischen Widerstandes nimmt die Amplitude der Schwingungen ab; die Art des Druckablaufes erinnert an einen dikroten Puls. Im vorhergehenden Abschnitt haben wir die Bedingungen, die zum Auftreten von Resonanzpulsen führen können, näher besprochen und am Herzlungenpräparat die Entstehung eines dikroten Pulses nachgewiesen (vgl. Abb. 1). Infolge der hohen Eigenschwingungszahl des Frankschen Federmanometers ($N = 80$) ist es ausgeschlossen, daß die in Abb. 2 aufgenommenen Schwingungen registrierte Eigenschwingungen des Manometers darstellen, wie sie z. B. in Form der sogenannten „Vaguspulse" bei Anwendung des Quecksilbermanometers auftreten. Die Kurve gibt vielmehr die Eigenschwingung des arteriellen Systems wieder. Daß es sich hier um eine Eigenschwingung handelt, zeigt die im gleichen Versuch registrierte Kurve in Abb. 3. Infolge Abnahme der Herzfrequenz und der damit vermutlich verbundenen Änderung der Systolendauer kommt die Eigenschwingung noch stärker zur Geltung. Zufällig wurde auch der Ausfall eines Herzschlages registriert. Die Schwingungsdauer und das logarithmische Dekrement sind gut wahrnehmbar und beweisen die Existenz von ausgelösten Eigenschwingungen

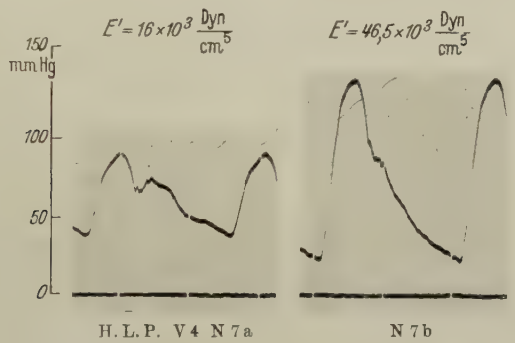
des arteriellen Systems. Unter solchen Verhältnissen ist eine Bestimmung des diastolischen, des systolischen und vor allem des mittleren Blutdruckes nicht möglich.

Um das Auftreten von Eigenschwingungen des arteriellen Systems zu vermeiden und um Pulskurven und Druckverhältnisse zu erzielen, wie sie am natürlichen Kreislauf des Hundes bestehen, wurde das arterielle



H. L. P. V 1 N 5a

Abb. 3. Resonanzpulse. Bei Ausfall eines Herzschlages Hervortreten der Eigenschwingung des arteriellen Systems und des logarithmischen Dekrementes. Minutenvolumen 500 ccm. Zeitmarkierung $^1/_4$ Sek. Siehe Text.



H. L. P. V 4 N 7a N 7b

Abb. 4. Zentrale Pulsdruckkurven bei Erhöhung des elastischen Widerstandes (E'). Minutenvolumen (500 ccm) und peripherer Widerstand (Schraubklemme) konstant. Zeitmarkierung $^1/_4$ Sek. Siehe Text.

System so abgeändert, daß der elastische Widerstand beträchtlich erhöht war (vgl. dieses Arch. Bd. **197**, S. 492).

Puls N 7a der Abb. 4 zeigt eine bei dem Wert von 16000 E'-Einheiten registrierte Pulsdruckkurve. Der Puls N 4 der Abb. 5 wurde bei einem elastischen Widerstand von 13200 E'-Einheiten aufgenommen. Die Höhe des diastolischen und systolischen Blutdruckes ist unter solchen Bedingungen exakt meßbar; durch Integration der Pulskurven kann der mittlere Blutdruck genau bestimmt werden. Die Zahlenangaben der E'-Einheiten beziehen sich hier und bei den folgenden Pulskurven auf den

integrierten mittleren Blutdruck. Die Pulskurven der Abb. 4, Puls N 7b und der Abb. 5, Puls N 5 entstehen bei Abklemmen des pneumatischen Windkessels, wodurch der elastische Widerstand in Puls N 7b der Abb. 4 auf 46500 und in Puls N 5 der Abb. 5 auf 44800 E'-Einheiten erhöht wird. Man sieht, daß hierbei der diastolische Blutdruck sinkt, der systolische hingegen ansteigt, und zwar ist die Zunahme des systolischen Druckes größer als die Abnahme des diastolischen Druckes. Dieses Verhalten bei Erhöhung des elastischen Widerstandes ist in allen Blutdruckkurven festzustellen, wenn man von einem Volumenelastizitätskoeffizienten E' ausgeht, der den normalen Elastizitätsverhältnissen am Hunde entspricht.

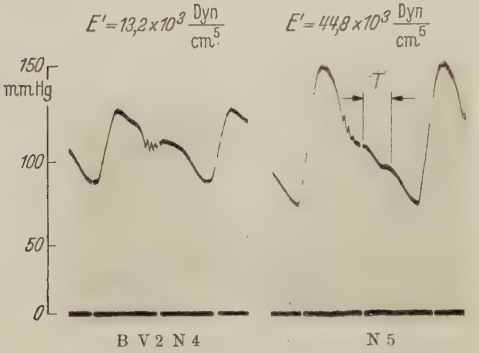


Abb. 5. Zentrale Pulsdruckkurven bei Erhöhung des elastischen Widerstandes (E'). In Puls N 5 Hervortreten der Eigenschwingung des arteriellen Systems (T = 104 σ). Minutenvolumen (750 ccm) und peripherer Widerstand (Schraubklemme) konstant. Zeitmarkierung $^1/_4$ Sek. Siehe Text.

Stellt man die Höhe des diastolischen und systolischen Blutdruckes der Pulsdruckkurven als Funktion des Volumenelastizitätskoeffizienten E' graphisch dar, so ergibt sich das in Abb. 6 dargestellte Kurvenbild. In dieses Diagramm ist außerdem die Druckamplitude ΔP bei steigendem elastischen Widerstand eingetragen. Man sieht, daß der diastolische Druck P_d mit dem Elastizitätskoeffizienten E' in keiner linearen Beziehung steht. Von O. Frank (7) wurden am Windkesselmodell durch eine Bedingungsgleichung für den stationären Druck die Beziehungen der einzelnen Kreislaufgrößen zum stationären Druck mathematisch formuliert. Nach dieser Gleichung ist der stationäre

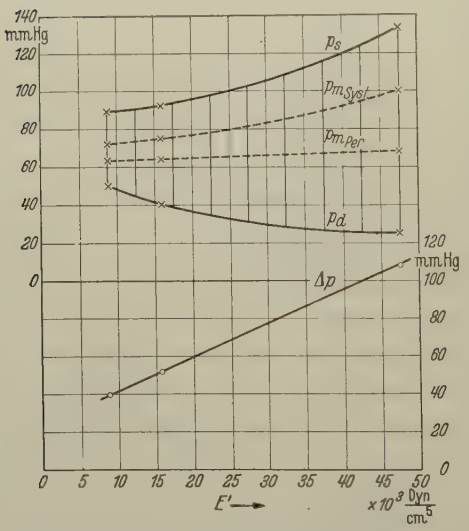


Abb. 6. Beziehung des diastolischen (P_d) und des systolischen Blutdruckes (P_s), des mittleren integrierten Blutdruckes ($P_{m\,Per.}$) und des integrierten Austreibungsdruckes ($P_{m\,Syst.}$), sowie der Blutdruckamplitude ΔP zum elastischen Widerstand (E') bei konstantem Minutenvolumen (500 ccm) und konstantem peripheren Widerstand (Schraubklemme). Siehe Text.

Druck von dem elastischen Widerstand in Form einer Exponentialfunktion abhängig. Wezler (14) hat in diese Gleichung die von O. Frank später benutzten Bezeichnungen eingeführt und an Hand von Beispielen den diastolischen Druck als Funktion des elastischen Widerstandes bei verschieden hohen peripheren Strömungswiderständen unter sonst konstanten Kreislaufverhältnissen graphisch dargestellt*. Die Kurve des diastolischen Druckes P_d in der Abb. 6 stimmt mit den nach der Bedingungsgleichung theoretisch abgeleiteten Kurven gut überein. Wie aus Abb. 6 hervorgeht, ist die Druckamplitude ΔP dem Volumenelastizitätskoeffizienten E' proportional. Auch diese Beziehung wird von der Theorie des Blutdruckes gefordert, da $\Delta P = E' \cdot \Delta V$ ist, d. h. daß die Amplitude dann dem elastischen Widerstand proportional ansteigt, wenn das Schlagvolumen konstant gehalten werden kann. Diese Voraussetzung ist bei der hier angewandten Versuchsanordnung des Herzlungenpräparates erfüllt. Die Höhe des systolischen Blutdruckes P_s ergibt sich aus der Summe des diastolischen Druckes P_d und der Höhe der Amplitude ΔP; diese einfache Beziehung erklärt den Verlauf der Kurve des systolischen Blutdruckes bei steigendem Elastizitätskoeffizienten des arteriellen Systems.

In dem Diagramm sind außerdem der mittlere Blutdruck der ganzen Pulskurve einer Herzperiode $P_{m\ Per.}$ und der mittlere Druck während der Systolendauer $P_{m\ Syst.}$ eingetragen. In dem folgenden Kapitel über die Berechnung der Herzarbeit wird nachgewiesen werden, daß beim Herzlungenpräparat der mittlere Druck über die Systolendauer 66 % der Amplitude beträgt. Daraus erklärt sich der Verlauf der mittleren Blutdruckkurven $P_{m\ Per.}$ und $P_{m\ Syst.}$ in Abb. 6 bei Ansteigen des elastischen Widerstandes.

Durch die in Abb. 6 aufgezeigte Beziehung zwischen der Höhe des Blutdruckes und des elastischen Widerstandes werden die von O. Frank (7) am Windkessel ermittelten mathematischen Beziehungen bestätigt. Die für die experimentelle Beweisführung erforderliche Voraussetzung: Änderung des elastischen Widerstandes ohne Änderung der Stromstärke, des peripheren Widerstandes und der Herztätigkeit ist am natürlichen Kreislauf wegen der Wechselbeziehung der einzelnen Kreislaufgrößen nicht gegeben. Das Herzlungenpräparat aber bietet in der hier benutzten Versuchsanordnung die Möglichkeit zur experimentellen Analyse, da der elastische Widerstand unabhängig von den anderen Kreislaufgrößen geändert werden kann.

III. Über die Berechnung der Herzarbeit.

O. Frank (15) hat für die Berechnung der Arbeit des linken Ventrikels sieben Summanden aufgestellt, von denen aber nur zwei praktische Bedeutung besitzen.

* Die Diagramme und die Wiedergabe der O. Frankschen Bedingungsgleichung für den stationären Druck sind in der Abhandlung von Wezler und Böger in den „Ergebnissen der Physiologie", Bd. 41 auf S. 528—531 einzusehen.

Der eine Summand stellt den Betrag der potentiellen Energie dar, die während der Ventrikelarbeit geleistet wird, der andere die kinetische Energie, die in der Aortenwurzel erzeugt wird. Die übliche Formulierung des einen Summanden mit $P \cdot V$, wobei P den mittleren Blutdruck in der Aorta und V das aus dem Herzen ausgeworfene Blut bezeichnet, wird von O. Frank als ungenau abgelehnt und in seiner „Dynamik des Herzmuskels" für die zeitlichen Registriermethoden durch folgende Beziehung angegeben:

$$A = \int_{t_0}^{t_1} P v \, dt.$$

Hierbei ist $P = f(t)$ und $v = \varphi(t)$, d. h. der Druck P und die Geschwindigkeit v, mit der das Blut ausgetrieben wird, stellen eine Funktion der Zeit dar. Mit anderen Worten, um den ersten Summanden der Herzarbeit exakt berechnen zu können, muß man eine Druck-Zeit-Kurve und eine Geschwindigkeits-Zeit-Kurve des in die Aortenwurzel einströmenden Blutes besitzen, wobei t_0 den Zeitpunkt des Öffnens und t_1 den Zeitpunkt des Schließens der Aortenklappen bezeichnet; die Zeit von t_0 bis t_1 entspricht der Austreibungszeit.

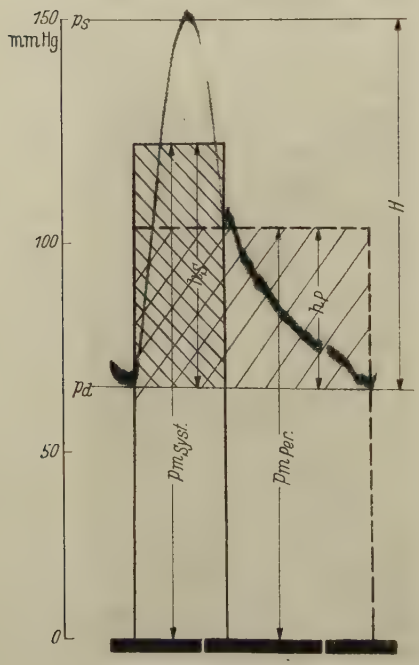


Abb. 7. Zur Bestimmung des Austreibungsdruckes und des Mitteldruckes durch Integration der Pulskurve. Siehe Text.

In der „Grundform des arteriellen Pulses" führt O. Frank aus: „wenn man die Veränderung der Geschwindigkeit des aus dem Herzen ausströmenden Blutes nicht kennt, so kann man einen annähernden Wert der Arbeit dadurch erhalten, daß man den mittleren Druck aus der Druck-Zeit-Kurve für die Austreibungsperiode in der bekannten Weise bestimmt und mit dem ausgeworfenen Volumen multipliziert" ... „aus dem mit dem Quecksilbermanometer erhaltenen Kurven kann man den Druck überhaupt nicht korrekt berechnen, denn das Quecksilbermanometer gibt ja, wie bekannt, den mittleren Druck für die Austreibungszeit nicht richtig an".

Wir behandeln zunächst den ersten Faktor des ersten Summanden P. Von Volkmann (16) und von O. Frank (15) war der Weg gezeigt worden, um aus arteriellen Druckkurven den mittleren Druck zu bestimmen; „man versteht unter mittleren Druck den Wert, den man durch Division des Integrals der Druckkurve durch die dazugehörige Zeit erhält".

Die Abb. 7 gibt ein Beispiel einer Bestimmung des mittleren Druckes für die Austreibungszeit $P_{m\ Syst.}$ und für die gesamte Pulsdauer $P_{m.\ Per.}$ am Herzlungenpräparat.

Das hier angegebene Schema lehnt sich an das Verfahren von Wezler und Böger (17) an, welches für die Bestimmung des mittleren integrierten Blutdruckes aufgestellt wurde. Wenn man die Fläche des systolischen Teiles der Pulskurve planimetriert und den erhaltenen Wert durch die Strecke der Systolendauer dividiert, erhält man die Höhe h_s des in dem Schema links eingezeichneten Rechteckes; die Höhe h_p des anderen Rechteckes erhält man, wenn man die gesamte Pulskurve planimetriert und durch die Strecke der Periodendauer dividiert. Von der Druckkurve hat man vorher den diastolischen Druck P_d und den systolischen Druck P_s in mm Hg bestimmt. Den pulsatorischen Mitteldruck erhält man aus der Beziehung $\frac{h_s \cdot A}{H}$ bzw. $\frac{h_P \cdot A}{H}$, wobei H die Pulshöhe und A die Amplitude in mm Hg bedeutet. Zum Planimetrieren wird man zweckmäßig die Pulskurven photographisch vergrößern. Der mittlere Blutdruck $P_{m\ Syst.}$ und $P_{m\ Per.}$ in mm Hg berechnet sich aus Addition des jeweiligen pulsatorischen Mitteldruckes zum diastolischen Druck.

Die Tabelle 2 gibt eine Übersicht über das Verhältnis $h_{s/H}$ und $h_{P/H}$ bei steigendem elastischen Widerstand E'. Bei den Werten von 9000 bis 16000 E'-Einheiten beträgt das Verhältnis $h_{s/H}$ im Mittel 0,64, bei den Werten von 34000—46500 E'-Einheiten im Mittel 0,67; d. h. die mittlere Druckamplitude der Austreibungszeit beträgt durchschnittlich 66% der maximalen Blutdruckamplitude. Aus der Tabelle 2 ist außerdem zu ersehen, daß das Verhältnis $h_{P/H}$ bei den niederen E'-Werten 0,44 und bei den hohen 0,41 im Mittel beträgt; als Mittel über alle Verhältnisse $h_{P/H}$ ergibt sich 0,43; d. h. am Herzlungenpräparat beträgt die mittlere Druckamplitude der Pulsdauer im Durchschnitt 43% der maximalen Druckamplitude. Von Wezler und Böger (17) werden für die mittlere Druckamplitude der Pulsdauer am Kaninchen 44% und am menschlichen Subklavispuls 42% der maximalen Blutdruckamplitude angegeben, die mit den am Herzlungenpräparat erhobenen mittleren Druckamplituden gut übereinstimmen.

Aus der Tabelle 3 ist ersichtlich, wie groß die Abweichung sein kann wenn statt des mittleren Austreibungsdruckes der mittlere Blutdruck für die gesamte Pulsdauer in den ersten Summanden der Herzarbeit eingesetzt wird. Die Werte sind nach steigendem elastischen Widerstand E' geordnet (Spalte 1). In den Spalten 2 und 3 sind die durch Integration der Pulskurven ermittelten Werte für den mittleren Austreibungsdruck $P_{m\ Syst.}$ und für den mittleren Pulsdruck $P_{m\ Per.}$ eingetragen.

Der zweite Faktor des ersten Summanden der Herzarbeit, die mittlere Geschwindigkeit v des aus dem Herzen strömenden Blutes, kann nach den oben zitierten Ausführungen von O. Frank, durch Einsetzen des Wertes für das Schlagvolumen annähernd richtig wiedergegeben werden. Das Herzlungenpräparat in der Modifikation nach Dusser de Barenne (3) erlaubt, das Schlagvolumen, d. h. das gesamte aus dem linken Ventrikel ausströmende Blut, direkt zu bestimmen, während bei der klassischen Versuchsanordnung des Herzlungenpräparates nach Knowlton und Starling (2) das Schlagvolumen infolge des vorhandenen Nebenschlusses der Coronardurchströmung nicht oder nur ungenau angegeben werden kann.

Tabelle 2. Verhältnis $h_{s/H}$ und $h_{P/H}$ bei steigendem elastischen Widerstand (E'). h_s = mittlere Pulshöhe während der Austreibung. h_P = mittlere Pulshöhe während der Periode. H = Höhe der Pulsamplitude.

V. N.	E' · 10^3 Dyn/cm^5	$h_{s/H}$	Prozentualer Anteil der mittleren Austreibungsdruckamplitude an der maximalen Druckamplitude	$h_{P/H}$	Prozentualer Anteil der mittleren Pulsdruckamplitude an der maximalen Druckamplitude
HLP V 4 N 7 c	9,0	3,0/4,8 = 0,625		1,73/4,8 = 0,360	
B V 9 N 6	11,4	2,38/4,1 = 0,581		1,5/4,1 = 0,366	
B V 4 N 7 c	11,6	2,8/4,0 = 0,675		1,75/4,0 = 0,438	
B V 2 N 4	13,2	5,06/7,4 = 0,683	64 %	3,76/7,4 = 0,507	44 %
B V 1 N 5	13,7	4,32/6,7 = 0,645		3,32/6,7 = 0,496	
HLP V 4 N 7 a	16,0	4,78/7,2 = 0,664		3,26/7,2 = 0,453	
B V 4 N 6	34,0	8,38/12,9 = 0,650	66 %	4,78/12,9 = 0,370	43 %
B V 1 N 6	44,7	9,43/14,3 = 0,659		5,63/14,3 = 0,394	
B V 2 N 5	44,8	7,69/11,3 = 0,681	67 %	4,96/11,3 = 0,439	41 %
HLP V 3 N 2 c	46,4	6,29/10,3 = 0,611		4,29/10,3 = 0,417	
HLP V 4 N 7 b	46,5	10,41/15,0 = 0,695		6,01/15,0 = 0,401	
HLP V 3 N 7 d	46,5	10,5/15,2 = 0,691		6,23/15,2 = 0,410	

Die Werte für das Schlagvolumen V_s sind in der Spalte 4 der Tabelle 3 eingetragen, wobei die während des Versuches registrierten Minutenvolumina durch die jeweilige aus den Pulskurven gemessene Periodendauer dividiert wurde.

In Spalte 5 und 6 der Tabelle 3 ist der erste Summand der Herzarbeit sowohl für $P_{m\ Syst.}$ wie für $P_{m\ Per.}$ berechnet. ΔA in Spalte 7 gibt die prozentuale Zunahme an, die der erste Summand erfährt, wenn statt des mittleren Blutdruckes für die gesamte Pulsdauer der Wert für den

Tabelle 3. Prozentuale Abweichung des 1. Summanden der Herzarbeit (Spalte 7) bei Einsetzen des Austreibungsdruckes (Spalte 2) statt des Mitteldruckes (Spalte 3) zur Berechnung der Herzarbeit. Geordnet nach steigendem elastischen Widerstand (Spalte 1).

V. N.	1 E' $\cdot 10^3$ Dyn/cm^5	2 $P_{m\ Syst.}$ mmHg	3 $P_{m\ Per.}$ mmHg	4 V_s ccm	5 $A = P_{m\ Syst.} \cdot V_s$ $\cdot 10^3$ Erg	6 $A = P_{m\ Per.} \cdot V_s$ $\cdot 10^3$ Erg	7 ΔA %
BV 9 N 9	11,4	95	89	2,88	365	342	6,7
BV 3 N 5	11,6	103	96	3,62	498	463	7,6
BV 4 N 7 b	11,6	100	92	4,08	544	501	8,6
BV 9 N 3	33,3	116	99	2,46	380	326	17,2
BV 9 N 8	34,2	119	95	2,80	444	354	25,4
BV 1 N 21	44,7	121	94	3,06	494	384	28,6

mittleren Austreibungsdruck eingesetzt wird. Ein Blick auf die Tabelle 3 zeigt, daß die Abweichung bei Ansteigen des elastischen Widerstandes von 11400 auf 44700 E'-Einheiten von 6,7 auf 28,6 % ansteigen kann. O. Frank (15) gibt an, daß „für den Kreislauf des Menschen bei stationären Verhältnissen die Abweichung von dem richtigen Wert bis 10 % betragen kann"; am Herzlungenpräparat kann auf Grund der vorliegenden Versuche die Abweichung fast 29 % betragen. Eine Erklärung für das Ansteigen der Abweichung bei steigendem elastischen Widerstand kann auf Grund der Kurven in Abb. 6, S. 502, gegeben werden. Bei Zunahme des Volumenelastizitätskoeffizienten E' bleibt der mittlere Blutdruck für die gesamte Pulsdauer annähernd konstant, während der mittlere Blutdruck der Austreibungszeit mit dem systolischen Druck ansteigt.

Der zweite Summand der Herzarbeit wurde von O. Frank (15) mit $\frac{\sum dm\, v^2}{2}$ bezeichnet. O. Frank gibt für die Bestimmung des zweiten Summanden an, „daß sich die erzeugte kinetische Energie aus der Volumen-Zeitkurve entnehmen läßt, sofern man den Querschnitt der Öffnung kennt, durch die das Blut aus dem Herzen ausströmt, d. h. die Geschwindigkeit der einzelnen Flüssigkeitsteilchen". Auch ohne Registrierung einer Volumen-Zeitkurve wird man den zweiten Summanden annähernd richtig berechnen, wenn man zur Ermittlung der mittleren Geschwindigkeit v, die die Summe der einzelnen während der Austreibungszeit in Bewegung gesetzten Flüssigkeitsteilchen hat, das Schlagvolumen heranzieht und durch den Querschnitt der Aorta und durch die Systolendauer dividiert. Auch Evans (18) hat in seine Formel für die Berechnung der gesamten Herzleistung zur Ermittlung der mittleren Geschwindigkeit im zweiten Summanden einer Anregung Starlings zufolge ebenfalls die Systolendauer eingesetzt, die er als $^3/_8$ der Periodendauer annahm.

Die Tabelle 4 gibt unter Berücksichtigung auch des 2. Summanden drei Beispiele zur Berechnung der Herzarbeit und der Herzleistung des

Tabelle 4. Zur Berechnung

V. N.	1 Herzgewicht g	2 $P_{m\ Syst.}$ mmHg	3 Periodendauer σ	4 Systolendauer σ	5 Systole/Periode	6 V_m ccm	7 V_s ccm
BV9 N2a	130	102	476	166	2,7/8	300	2,38
BV4 N7b	120	100	489	159	2,6/8	500	4,08
BV2 N5	120	126	461	184	3,2/8	750	5,76

linken Ventrikels bei steigendem Minutenvolumen bzw. Schlagvolumen, die in Spalte 6 und 7 der Tabelle 4 eingetragen sind. Die Periodendauer und Systolendauer in Spalte 3 und 4 sind in σ eingetragen (1 σ = 0,001 Sek.).

Als Endpunkt der Systolendauer wurde der tiefste Punkt der Inzisur gemessen, obwohl nach O. Frank der Beginn der Diastole schon etwas vorher eintritt. Nach Wezler und Greven (12) ist der tiefste Punkt der Inzisur sicherer und einfacher zu bestimmen, als der wahre Endpunkt der Systole. Der hier angegebene und in die Berechnung der Herzarbeit eingesetzte Wert der Systolendauer weicht also um einen geringen Betrag von der absoluten Systolendauer ab.

Aus der Spalte 5 der Tabelle 4 ersieht man, daß bei den hier angeführten Werten das Verhältnis von Systolendauer zu Periodendauer entsprechend den Angaben von Evans (18) am denervierten Herzen annähernd $^3/_8$ beträgt. Zur Errechnung des Beschleunigungssummanden in Spalte 9 wurde für das spezifische Gewicht des Blutes 1,06 eingesetzt. Die Aortenkanüle hatte eine lichte Weite von 8 mm. Aus der Spalte 11 ersieht man, daß bis zu einem Minutenvolumen von 750 ccm bei dem angegebenen Querschnitt der Aortenkanüle der zweite Summand der Herzarbeit nicht viel mehr als 1 % der gesamten Arbeit beträgt. Er könnte also bei diesem Querschnitt der Kanüle bis zu dem angegebenen Minutenvolumen mit Recht vernachlässigt werden.

In jüngster Zeit wies Rein (19) darauf hin, daß bei dem in üblicher Weise konstruierten arteriellen System des Herzlungenpräparates die zu beschleunigende Masse nicht mehr mit dem Schlagvolumen identisch sei; bei Anwendung von relativ starren Röhren mit einem an der Peripherie des arteriellen Systems eingebauten pneumatischen Windkessel seien die Masse der Blutsäule bis zu dem Glaskolben in die Beschleunigungsarbeit einzubeziehen. Rein hat deshalb bei seiner Versuchsanordnung des Herzlungenpräparates den als pneumatischen Windkessel dienenden Glaskolben zentral eingebaut.

In der vorhergehenden Abhandlung* wurde der elastische Gesamtwiderstand und der Teilwiderstand des Gummischlauches bei den in unserem Institut vorhanderen Apparaturen für das Herzlungenpräparat quantitativ untersucht. An Hand der dort in Abb. 3, S. 488 eingetragenen Kurven läßt sich der prozentuale

* Vgl. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 485 (1941).

erzleistung des linken Ventrikels.

8	9	10	11	12	13
1. Summand $P_{m\ Syst.} \cdot V_s$) · 10^3 Erg.	2. Summand $\left(\frac{mv^2}{2}\right)$ · 10^3 Erg.	Herzarbeit A · 10^3 Erg.	Prozentualer Anteil des 2. Summanden an A	Herzleistung L · 10^3 Erg./Sek.	Herzleistung mkg/Min.
324	1,0	325	0,3%	682	0,417
544	5,63	550	1,0%	1125	0,688
966	11,81	978	1,2%	2120	1,297

Anteil des Speichervolumens für die einzelnen elastischen Teilwiderstände rechnerisch ermitteln. Als Beispiel wollen wir eine solche Rechnung bei einem „intraarteriellen" Druck von 80 mm Hg durchführen. Bei diesem Druck beträgt der elastische Teilwiderstand E'_{Schlauch} des 80 cm langen Gummischlauches mit 8 mm lichter Weite und 2 mm Wanddicke 26300 E'-Einheiten. Der elastische Gesamtwiderstand E'_3 hat bei 80 mm Hg einen Wert von 2600 E'-Einheiten. Hieraus ergibt sich für die restlichen elastischen Teilwiderstände E'_x ein Wert von 2890 E'-Einheiten nach der Beziehung:

$$E'_x = \frac{E'_3 \cdot E'_{\text{Schlauch}}}{E'_{\text{Schlauch}} - E'_3}.$$

Für eine Blutdruckamplitude ΔP von 10 mm Hg würde nach der Beziehung $E' = \frac{\Delta P}{\Delta V}$ das Speichervolumen ΔV des gesamten arteriellen Systems 5,14 ccm betragen. Der 80 cm lange Schlauch speichert 0,51 ccm, der als pneumatischer Windkessel wirkende Glaskolben mit dem Gummifingerling des „Starlingschen Widerstandes" hingegen 4,63 ccm, so daß der Gummischlauch 10% des Speichervolumens aufnehmen würde; 90% entfallen auf die übrigen Teilwiderstände. Dies gilt, obwohl der Volumenelastizitätskoeffizient des Schlauches mit 26300 E'-Einheiten einen Wert darstellt, der in den oberen Bereich der am natürlichen Kreislauf des Hundes beobachteten E'-Werte fällt. Wird der penumatische Windkessel ausgeschaltet, so speichert der Gummischlauch infolge der Zunahme der Blutdruckamplitude nun während eines Herzschlages ein weitaus höheres Volumen; der zweite Summand der Herzarbeit könnte in der üblichen Weise berechnet werden. Bei eingeschaltetem „peripheren" pneumatischen Windkessel jedoch werden von dem Schlauch nur 10% des Speichervolumens aufgenommen, so daß der an sich speicherfähige Schlauch als „relativ starr" angesehen werden kann. Eine mathematisch-physikalische Analyse für die Berechnung des zweiten Summanden der Herzarbeit bei solchen elastischen Verhältnissen ist unseres Wissens bisher noch nicht durchgeführt. Gauer und Kramer (20) vermissen bei der Berechnung des zweiten Summanden die von O. Frank (21) in der „Kritik der elastischen Manometer" eingeführte „wirksame Masse". Diese „wirksame Masse", die die Trägheitskräfte eines Manometersystems bestimmt, ist aber nicht ohne weiteres identisch mit der Summe der Flüssigkeitsteilchen, die während der Austreibungszeit beschleunigt wird.

Bei zentraler Anordnung des pneumatischen Windkessels bestehen keine Bedenken über die in den zweiten Summanden der Herzarbeit einzusetzenden Masse; wir haben daher entsprechend dem Vorgehen von Rein (19), den pneumatischen

Windkessel unmittelbar von der Aortenkanüle aus seitenständig in das arterielle System des Herzlungenpräparates eingefügt (vgl. Abb. 1, II u. III auf S. 486 der vorhergehenden Abhandlung d. Arch.).

IV. Über den Einfluß des elastischen Widerstandes auf die Herzleistung.

Die Modifikation der Versuchsanordnung des Herzlungenpräparates nach Dusser de Barenne (3) gestattet, wie im vorigen Abschnitt dargelegt wurde, bei Beachtung der von O. Frank (15) aufgestellten Prinzipien zur Berechnung der Herzarbeit, die Herzleistung des linken Ventrikels genau zu bestimmen; wir sind somit in der Lage, auch den Einfluß des elastischen Widerstandes auf die Herzleistung quantitativ zu untersuchen. Wir haben zu diesem Zweck aus einer Reihe von Versuchen acht Beispiele ausgewählt, bei welchen unter sonst gleichen Bedingungen der elastische Widerstand durch Ein- und Ausschalten des pneumatischen Windkessels verändert worden war.

Aus den Kurven der Abb. 6 auf S. 502 geht hervor, daß der mittlere Druck der Austreibungszeit $P_{m\ Syst.}$ bei Zunahme des Volumenelastizitätskoeffizienten E' annähernd linear ansteigt. Bei gleichbleibendem Minutenvolumen bedeutet die Zunahme des mittleren Austreibungsdruckes ein gleichfalls annähernd proportionales Ansteigen der Herzleistung bei Zunahme des elastischen Widerstandes. Die Änderungen der verschiedenen Kreislaufgrößen vor und nach Abklemmen des pneumatischen Windkessels sind in der Tabelle 5 zusammengefaßt.

In Spalte 1 sind jeweils untereinander die Werte des elastischen Widerstandes E' bei eingeschaltetem und ausgeschaltetem pneumatischen Windkessel eingetragen, in Spalte 2 die prozentuale Zunahme $\Delta E'$. Aus den Spalten 3 und 5 geht hervor, daß bei den einzelnen Versuchen der diastolische Ausgangsdruck P_d und das Ausgangsminutenvolumen V_m verschieden waren. Aus der Spalte 9 ersieht man die entsprechenden Werte der Herzleistung L, und die Zahlen der Spalte 10 geben die prozentuale Zunahme ΔL der Herzleistung beim Ausschalten wieder. Aus den Mittelwerten der Tabelle ist zu ersehen, daß bei Ansteigen des elastischen Widerstandes um 218% die Herzleistung um etwa 14% zunimmt. Da, wie oben ausgeführt wurde, die Herzleistung bei Zunahme des elastischen Widerstandes annähernd linear ansteigt, ist man in der Lage, in jedem einzelnen Versuch anzugeben, um welchen Betrag die Herzleistung pro E'-Einheit zunimmt. Der Differenzenquotient $\frac{\Delta L}{\Delta E'}$ gibt diesen Betrag an, wobei die Leistungseinheiten in Erg/sec und die Einheit des Volumenelastizitätskoeffizienten in Dyn/cm^5 wiedergegeben sind (Spalte 11). Als Mittelwert aller Versuche errechnet sich bei Zunahme des elastischen Widerstandes um eine E'-Einheit ein Ansteigen der Herzleistung um 5,53 L-Einheiten. Bei Betrachtung der einzelnen Werte des Diffe-

Tabelle 5. Verhalten der Herzleistung (Spalte 9) und der Zunahme der Herzleistung pro Einheit des elastischen Widerstandes (Spalte 11) bei Erhöhung des elastischen Widerstandes durch Ausschalten des zentralen pneumatischen Windkessels.

V. N.	Pneumatischer Windkessel (50 ccm)	1 E' $\cdot 10^3$ Dyn/cm^5	2 $\Delta E'$ %	3 P_d mm Hg	4 $P_{m\,Syst.}$ mm Hg	5 V_m ccm	6 Periodendauer o	7 V_s ccm	8 Systolendauer o	9 L $\cdot 10^3$ Erg./Sek.	10 ΔL %	11 $\frac{\Delta L}{\Delta E'}$
BV1												
N5	Ein	13,7	226	107	129	520	387	3,36	157	1501	6,0	2,90
N6	Aus	44,7		88	137	520	372	3,22	159	1581		
N13	Ein	13,5	232	100	123	520	381	3,30	159	1430	9,9	4,50
N15	Aus	44,8		85	135	520	389	3,38	161	1571		
N20	Ein	12,9	246	85	105	500	370	3,16	162	1148	17,6	6,35
N21	Aus	44,7		48	121	500	367	3,06	160	1350		
BV2												
N4	Ein	13,2	239	87	115	750	449	5,61	183	1941	9,2	5,67
N5	Aus	44,8		75	126	750	461	5,76	184	2120		
BV4												
N7	Ein	11,6	139	78	100	500	489	4,16	159	1125	18,5	9,34
N6	Aus	34,0		55	119	500	499	4,08	176	1334		
BV9												
N2a	Ein	11,0	203	89	102	300	476	2,28	166	682	13,2	4,08
N3	Aus	33,0		78	116	300	493	2,46	184	773		
N4	Ein	11,0	204	82	97	300	481	2,40	167	647	19,8	5,69
N3a	Aus	33,5		78	116	300	489	2,44	172	775		
N6	Ein	11,4	200	85	102	300	565	2,82	178	658	19,8	5,70
N7	Aus	34,2		70	118	300	569	2,84	215	788		
	Mittelwerte:		218								**14,3**	**5,53**

renzenquotienten $\frac{\Delta L}{\Delta E'}$ fällt auf, daß eine Streuung um den Mittelwert von + 69% und − 48% vorhanden ist. Eine Analyse dieses Befundes zeigte, daß eine Beziehung des Differenzenquotienten $\frac{\Delta L}{\Delta E'}$ zum diastolischen Ausgangsdruck vorhanden ist. Stellt man die Beziehung graphisch dar, so ergibt sich die Kurve der Abb. 8. Hierbei ist $\frac{\Delta L}{\Delta E'}$ als Funktion des diastolischen Ausgangsdruckes P_d eingetragen. Aus der Kurve der Abbildung ersieht man, daß mit zunehmendem diastolischen Druck die Herzleistung durch Änderungen des elastischen Widerstandes weniger beeinflußt wird.

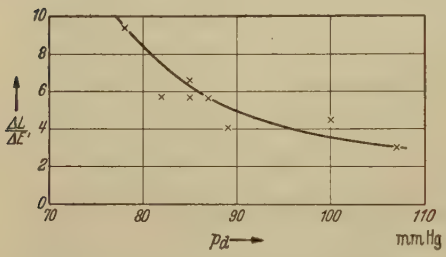


Abb. 8. Beziehung zwischen der Zunahme der Herzleistung (ΔL) pro Zunahme der Einheit des elastischen Widerstandes ($\Delta E'$) und dem diastolischen Druck (P_d). Siehe Text.

In der Spalte 8 der Tabelle 5 sind die Werte der Systolendauer in σ eingetragen. Bis auf den Wert in der Reihe BV 1 N 21 nimmt die Systolendauer bei Erhöhung des elastischen Widerstandes geringfügig zu. Die Periodendauer (Spalte 6) nimmt in einigen Fällen bei Abklemmen des pneumatischen Windkessels zu, in anderen hingegen um einen geringen Betrag ab. Die Zahl der Versuche reicht noch nicht aus, um hier eine Gesetzmäßigkeit aufzuweisen.

V. Über die Speicherfähigkeit des arteriellen Systems bei Erhöhung des elastischen Widerstandes.

Auf Grund der Beziehung $\Delta V = \frac{\Delta P}{E'}$ ist man in der Lage, das systolische Speichervolumen ΔV des arteriellen Systems zu berechnen, wobei ΔP die aus der Pulskurve gemessene maximale Blutdruckamplitude in cm Hg bedeutet, multipliziert mit 981 und mit 13,6; E' stellt den Volumenelastizitätskoeffizienten dar in Dyn/cm^5, der für den integrierten mittleren Blutdruck desselben Pulsschlages aus der Eichkurve des elastischen Widerstandes entnommen wird. $\frac{\Delta P}{E'}$ ergibt dann das Speichervolumen ΔV des Windkessels in ccm. Der Quotient $\frac{\Delta V}{V_s}$ gibt den Anteil des Schlagvolumens V_s an, der während eines Herzschlages im arteriellen System gespeichert wird.

Tabelle 6. Systolisches Speichervolumen (Spalte 4) und Anteil des systolischen Speichervolumens des arteriellen Windkessels am Schlagvolumen (Spalte 5) nach steigendem Schlagvolumen (Spalte 1), geordnet unter Zusammenfassung von niederen und hohen Werten des elastischen Widerstandes.

V. N.	1 V_s ccm	2 ΔP mm Hg	3 $E' \cdot 10^3$ $\frac{\text{Dyn}}{\text{cm}^5}$	4 $\Delta V = \frac{\Delta P}{E'}$ ccm	5 $\frac{\Delta V}{V_s}$
BV1					
N20	3,16	29	12,9	2,99	0,946
BV4					
N7b	4,08	32	11,6	3,68	0,901
BV2					
N1	4,77	36	13,0	3,69	0,774
BV2					
N4	5,61	41	13,2	4,14	0,739
		Mittelwerte:	**12,7**		**0,840**
BV9					
N3	2,46	61	33,3	2,44	0,992
BV1					
N6	3,22	75	44,7	2,24	0,696
BV1					
N15	3,38	74	44,8	2,20	0,651
BV2					
N5	5,76	75	44,8	2,24	0,389
		Mittelwerte:	**41,6**		**0,683**

In der Tabelle 6 ist eine solche Berechnung des Speichervolumens und dessen Anteil am Schlagvolumen bei Werten des elastischen Widerstandes von 12900—13200 E'-Einheiten und bei hohem Koeffizienten von 33300—44800 E'-Einheiten durchgeführt worden. Die Werte sind in beiden Fällen jeweils nach steigendem Schlagvolumen V_s geordnet. Bei den niederen E'-Werten bestand das arterielle System aus dem 20 cm langen Gummischlauch und einem zentral eingebauten pneumatischen Windkessel von 50 ccm Rauminhalt [vgl. die Abb. 1, II u. III, S. 486 der vorhergehenden Abhandlung (1)]. Die hohen E'-Werte gelten für den Gummischlauch ohne pneumatischen Windkessel. Aus der Spalte 4 der Tabelle 6 ersieht man, daß das Speichervolumen ΔV bei den niederen E'-Werten bei Zunahme des Schlagvolumens ansteigt, hingegen bei hohem elastischen Widerstand bei ansteigendem Schlagvolumen annähernd gleich bleibt. In beiden Fällen nimmt aber der Quotient $\Delta V/V_s$ bei Zunahme des Schlagvolumens ab, bei niederem E' von 0,946 auf 0,739 und bei hohem E' von 0,992 auf 0,389. Mit 100 multipliziert geben diese Zahlen zugleich den prozentualen Anteil des Speichervolumens an dem Schlagvolumen wieder. Die Mittelwerte beider Gruppen der Tabelle 6 zeigen, daß bei einem mittleren elastischen Widerstand von 12700 E'-Einheiten das Speichervolumen 84 % des Schlagvolumens ausmacht, bei einem mittleren elastischen Widerstand von 41600 noch 68 %. Obwohl der kurze Schlauch

einen relativ hohen Elastizitätskoeffizienten E' besitzt, wie er bisher an der Hundeaorta noch nicht beobachtet wurde, ist die Speicherung noch immer erstaunlich hoch. Diese Speicherung des kurzen Gummirohres trotz seines hohen elastischen Widerstandes ist überhaupt nur dadurch möglich, daß bei Ausschalten des pneumatischen Windkessels die maximale Amplitude ΔP ebenfalls mit dem Volumenelastizitätskoeffizienten ansteigt.

Besprechung der Ergebnisse.

Das Herzlungenpräparat ist nicht nur die klassische Methode zur Erforschung der Dynamik und Energetik des isolierten Warmblüterherzens, sondern es eignet sich — wie die vorliegenden Versuche gezeigt haben — auch dazu, die Mechanik des arteriellen Systems zu analysieren. Voraussetzung hierzu ist, daß die Kreislaufbedingungen des künstlichen „Gefäßsystems" den Verhältnissen an der lebenden Aorta angepaßt werden, und daß sich die einzelnen Gefäßkonstanten unabhängig voneinander verändern und auch messen lassen. In der vorhergehenden Abhandlung* war durch entsprechende Konstruktion des arteriellen Systems unter Berücksichtigung der elastischen Verhältnisse die Vorbedingung für eine experimentelle Untersuchung von Einflüssen des elastischen Widerstandes auf die verschiedenen Kreislaufgrößen geschaffen worden. Dies dürfte auch für die Bearbeitung anderer Fragestellungen von Bedeutung sein. Es sei hier nur darauf hingewiesen, daß Wiggers (23) das Herzlungenpräparat nach Knowlton und Starling (2) zur Untersuchung der intraventrikulären Druckverhältnisse ablehnt, weil nach Katz (24) die elastischen Bedingungen am arteriellen System des Herzlungenpräparates nicht konstant zu halten seien. Nachdem jetzt der elastische Widerstand in eine einfache Beziehung zum „intraarteriellen" Druck gebracht und auch am Herzlungenpräparat messend erfaßt werden konnte, wird sich diese so vielseitig verwendbare Versuchsanordnung auch zu Untersuchungen von intraventrikulären Druckkurven heranziehen lassen.

Unsere Versuche am Herzlungenpräparat haben, wie die Analyse von O. Frank und K. Wezler an natürlichen Pulskurven, gezeigt, daß die Höhe des elastischen Widerstandes bzw. die Dehnbarkeit des arteriellen Systems einen maßgeblichen Einfluß auf die Form der Pulskurve ausübt. Schon die methodischen Voruntersuchungen an den bisher üblichen Apparaturen des Herzlungenpräparates hatten ergeben, daß die elastischen Verhältnisse in ihrer Größenordnung in keiner Weise den natürlichen Kreislaufbedingungen entsprechen. Für den elastischen Widerstand wurde ein Wert ermittelt, der eher für den zentralen Windkessel eines Menschenherzens geeignet erscheint als für das Herz von Hunden, d. h. das Herz arbeitet gegen einen unnatürlich niederen elastischen Widerstand. Wegen des niederen elastischen Widerstandes kann die Eigenschwingung des

* Vgl. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 485 (1941).

arteriellen Systems durch die erregende Schwingung der Systolendauer zur Resonanz gebracht werden. Hierdurch wird nicht nur das Pulsbild völlig entstellt, sondern auch die Feststellung des Blutdruckes unmöglich gemacht. Die bei diesen elastischen Verhältnissen auftretenden Resonanzphänomene sind bei Registrierung des Blutdruckes mit einem Quecksilbermanometer nicht zu erkennen; allenfalls kann eine große Amplitude bei sonst niederem Minutenvolumen oder eine Abnahme der Amplitudenhöhe bei Ausschaltung des pneumatischen Windkessels auf die ausgelösten Eigenschwingungen des künstlichen arteriellen Kreislaufes hinweisen; eine Heranziehung des unter solchen Bedingungen mit dem Quecksilbermanometer registrierten Druckes zur Berechnung der Herzleistung und damit auch des Wirkungsgrades kann also zu unzutreffenden Ergebnissen führen.

Für Untersuchungen am Herzlungenpräparat, bei welchen es häufig darauf ankommt, den mittleren Blutdruck konstant zu halten, bietet der Starlingsche Widerstand so große Vorteile, daß wohl viele Experimentatoren nur ungerne auf die Verwendung dieser bewährten Anordnung verzichten würden. Der wesentliche technische Vorteil dieses „peripheren" Widerstandes liegt darin, daß selbst große Änderungen des Minutenvolumens nur verhältnismäßig geringe Änderungen des mittleren Blutdruckes ergeben, da mit einer Strömungszunahme eine Dehnung des Gummifingerlings und somit eine Abnahme des peripheren Strömungswiderstandes verbunden ist. Gleichzeitig wird auch eine Erhöhung der Blutdruckamplitude durch Abnahme des elastischen Widerstandes ausgeglichen. Diesen Vorteilen steht als Nachteil die Möglichkeit des Auftretens von Resonanzerscheinungen gegenüber, die, wie oben ausgeführt, eine verläßliche Druckregistrierung ausschließen. Um nun die Vorteile beibehalten zu können, die Nachteile aber möglichst zu vermeiden, muß man in erster Linie trachten, den elastischen Gesamtwiderstand zu erhöhen. Dieses kann durch Verkürzung des arteriellen Gummischlauches und durch Verwendung eines relativ dickwandigen Schlauches, sowie durch Verkleinerung des pneumatischen Windkessels, der unmittelbar an die Aortenkanüle angeschlossen sein soll, erreicht werden. Ferner sollte für die Kompression des Fingerlings im „Starlingschen Widerstand" eine nicht zu große Druckflasche gewählt werden. Eine Überprüfung der elastischen Verhältnisse ist nach den in der vorhergehenden Mitteilung gemachten Angaben unschwer durchführbar; sie müßte für den im Versuch zu erwartenden arteriellen Druckbereich einen Wert von mindestens 7000 E'-Einheiten ergeben. Außerdem läßt sich im Versuch das Vorhandensein störender Resonanzpulse jederzeit durch Abschalten des pneumatischen Windkessels nachweisen: sinkt hierbei der Blutdruck, so deutet dies auf Resonanzphänomene hin.

An der von uns modifizierten Anordnung des arteriellen Systems und des „peripheren" Widerstandes lassen sich durch Erhöhung des elastischen Widerstandes auf Werte, wie sie am natürlichen Kreislauf von Hunden gefunden werden, die Resonanzerscheinungen ausschalten; es werden Pulsbilder registriert, die den zentralen Pulskurven von Tier und Mensch durchaus ähnlich sind. Durch willkürliche Veränderung der Höhe des elastischen Widerstandes können alle Übergänge von normalen zu dikroten und hyperdikroten Pulsbildern am Kreislaufmodell des Herzlungenpräparates hervorgerufen werden. Dieser Befund bildet einen experimen-

tellen Beitrag zur Theorie der Entstehung von dikroten und hyperdikroten Pulsen, die von O. Frank (10) als Resonanzpulse gedeutet werden [s. auch Wezler und Knebel (11) und Wezler und Greven (12)].

Die bei normalen elastischen Verhältnissen aufgenommenen Pulskurven entsprechen nicht nur hinsichtlich ihrer Form natürlichen Pulsbildern, sondern es stimmt auch der prozentuale Anteil des integrierten mittleren Blutdruckes an der maximalen Blutdruckamplitude, für den als Mittelwert 43% erhoben wurden, auffallend mit den von Wezler und Böger (17) an Tier und Mensch festgestellten Durchschnittswerten überein. Man ist also durchaus berechtigt, die Befunde am Kreislaufmodell des Herzlungenpräparates hinsichtlich der Mechanik des arteriellen Systems auch auf den natürlichen Kreislauf zu übertragen.

Die hier mitgeteilten Beobachtungen liefern ferner auch eine experimentelle Bestätigung für die in der „Bedingungsgleichung O. Franks (7) für den stationären" Druck enthaltenen und von K. Wezler (14) explizite dargestellten Beziehung zwischen der Elastizität des arteriellen Windkessels und der Höhe des diastolischen Druckes. Ebenso ließ sich die lineare Abhängigkeit der Blutdruckamplitude von der Höhe des elastischen Widerstandes bei konstantem Schlagvolumen demonstrieren. Wird unter sonst gleichbleibenden Kreislaufverhältnissen, d. h. bei gleicher Strömung, gleichem peripheren Strömungswiderstand und bei unveränderter Dauer von Systole und Diastole der elastische Widerstand erhöht, d. h. die Dehnbarkeit des arteriellen Systems herabgesetzt, so sinkt der diastolische und steigt der systolische Druck; und zwar steigt der systolische Druck mehr an, als der diastolische fällt, wie schon von K. Wezler (14) festgestellt wurde. Am natürlichen Kreislauf lassen sich diese Verhältnisse nicht leicht in solch klarer Weise experimentell veranschaulichen, da infolge der vorhandenen Regulationen die verschiedenen Kreislaufgrößen nicht unabhängig voneinander verändert werden können.

Auch ein künstliches Kreislaufmodell, bei welchem das Herz durch eine Pumpe ersetzt wird [Broemser (22)], gibt die natürlichen Verhältnisse nur unvollkommen wieder, da sich die Tätigkeit des Herzens kaum nachahmen läßt. Hier stellt der künstliche Kreislauf für das Kaltblüterherz [O. Frank (15)] oder für das Warmblüterherz [Knowlton und Starling (2)] die geeignete Methodik dar.

Für die Berechnung der Herzarbeit ist bemerkenswert, daß bei Erhöhung des elastischen Widerstandes des arteriellen Systems bei sonst konstanten Kreislaufverhältnissen der mittlere integrierte Druck der ganzen Pulskurve nur wenig, der mittlere integrierte Druck der Austreibungszeit hingegen merklich ansteigt. Und zwar ergab sich aus einer großen Zahl von Messungen, daß der Anteil des integrierten mittleren Druckes der Austreibungszeit 66% der maximalen Blutdruckamplitude beträgt. Da nun die Höhe der Blutdruckamplitude abgesehen vom Schlagvolumen vom elastischen Widerstand abhängt, so ist auch die Abweichung des Aus-

treibungsdruckes vom Mitteldruck von der Höhe des elastischen Widerstandes abhängig. Dieser Befund ist insoferne von Bedeutung, als nach O. Frank (15) streng genommen zur Berechnung der Herzarbeit bzw. der Herzleistung nicht, wie sonst üblich, der mittlere Druck, sondern der mittlere Austreibungsdruck herangezogen werden soll. Bei Nichtbeachtung dieser Forderung kann bei hohem elastischen Widerstand die Abweichung von dem richtigen Wert bis ungefähr 29% betragen. Auch die Berechnung des Wirkungsgrades wird hierdurch beeinflußt.

Bei optischer Registrierung des Blutdruckes mit langsamer Filmgeschwindigkeit oder bei Verwendung der Rußregistrierung mit dem Federmanometer von Frank-Petter (25) wird man den Wert des mittleren Austreibungsdruckes annähernd richtig angeben können, wenn man zu dem diastolischen Druck 66% der Amplitude addiert. Das Quecksilbermanometer ist hierzu ungeeignet, da es infolge seiner niederen Eigenschwingung die Blutdruckamplitude verfälscht wiedergibt.

Unter Berücksichtigung dieser Berechnungsgrundlagen ergab sich, daß bei Ansteigen des elastischen Widerstandes, d. h. bei Abnahme der Dehnbarkeit des arteriellen Systems, um etwa 220% die Herzleistung um ungefähr 14% zunimmt; hierbei ist die Zunahme der Herzleistung pro Einheit des elastischen Widerstandes um so höher, je niederer der diastolische Ausgangsblutdruck ist. Nach dem Ohmschen Gesetz würde bei konstanter Stromstärke eine Erhöhung des peripheren Strömungswiderstandes um 220% den mittleren Druck um ebenfalls 220% erhöhen; der Austreibungsdruck und demzufolge die Herzleistung würde um einen entsprechenden Wert zunehmen, d. h. bei Erhöhung des peripheren Strömungswiderstandes nimmt unter sonst gleichen Bedingungen die Herzleistung erheblich mehr zu als bei Erhöhung des elastischen Widerstandes. Wezler und Böger (26) fanden bei dem sogenannten Elastizitätshochdruck des Menschen, daß die Herzleistung nur geringgradig von den normalen Mittelwerten abwich. Dieses Verhalten der Herzleistung bei hohem elastischen Widerstand findet seine Erklärung darin, daß der mittlere Austreibungsdruck trotz der beträchtlichen Zunahme der Blutdruckamplitude nur geringgradig bei Abnahme der Dehnbarkeit des arteriellen Systems ansteigt.

Die Ermittlung der Speicherfähigkeit des arteriellen Systems bei verschieden hohen Minutenvolumina und verschiedener Dehnbarkeit des arteriellen Systems ergab, daß auch bei sehr hohem elastischen Widerstand, d. h. bei fast starren „Gefäßwänden", der Anteil des Speichervolumens an dem Schlagvolumen immer noch erstaunlich hoch sein kann; es erfolgt also auch bei starker Abnahme der Dehnbarkeit des arteriellen Systems ein noch relativ gleichmäßiger Abstrom in die Peripherie. Die Erhaltung der Windkesselfunktion trotz relativ starren Gefäßwänden wird gewährleistet durch die erhebliche Zunahme der Blutdruckamplitude.

Zusammenfassung.

1. Der elastische Widerstand des arteriellen Systems beeinflußt maßgeblich die Form der Pulskurve. Durch willkürliche Änderung der Elastizität lassen sich normale, dikrote und hyperdikrote Pulsbilder hervorrufen. Die dikroten und hyperdikroten Pulsformen sind Resonanzpulse.

2. Durch den niederen elastischen Widerstand, wie er bei der üblichen Apparatur des Herzlungenpräparates besteht, können Resonanzphänomene ausgelöst werden, die eine zuverlässige Bestimmung des arteriellen Blutdruckes unmöglich machen.

3. Die von O. Frank und K. Wezler entwickelte Theorie des Blutdruckes findet am Herzlungenpräparat ihre experimentelle Bestätigung. Die lineare Abhängigkeit der Blutdruckamplitude von dem elastischen Widerstand bei konstantem Schlagvolumen wird nachgewiesen.

4. Die Berechnung der Herzarbeit des linken Ventrikels wird nach den von O. Frank aufgestellten Prinzipien durchgeführt und die Abweichung von der üblichen Berechnung ermittelt.

5. Das Verhalten der Herzleistung bei Änderung des elastischen Widerstandes wird quantitativ untersucht und eine Abhängigkeit der Zunahme der Herzleistung pro Einheit des elastischen Widerstandes von der Höhe des diastolischen Ausgangsdruckes nachgewiesen.

6. Das Verhältnis des Speichervolumens des arteriellen Systems zum Schlagvolumen bei verschieden hohem elastischen Widerstand wird untersucht.

Literatur.

1) Knebel, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 485 (1941). — 2) Knowlton, F. P., u. E. H. Starling: J. Physiol. (Brit.) **44**, 206 (1912). — 3) Dusser de Barenne, J. G.: Pflügers Arch. **188**, 281 (1921). — 4) Dale, H. H., u. E. H. J. Schuster: J. Physiol. (Brit.) **64**, 356 (1928). — 5) Weese, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **166**, 392 (1932). — 6) Frank, O.: Z. Biol. **82**, 49 (1925). — 7) Frank, O.: Ebenda **37**, 486 (1899); **46**, 441 (1905). — 8) Frank, O.: S.ber. Ges. Morph. u. Physiol. Münch. **1926**, S. 34, 35. — 9) Wezler, K., u. A. Böger: s. Tabelle 67, Erg. Physiol. usw. **41**, 548 (1939). — 10) Frank, O.: S.ber. Ges. Morph. u. Physiol. Münch. **1926** u. **1928**. — 11) Wezler, K., u. R. Knebel: Z. Biol. **98**, 302 (1937). — 12) Wezler, K., u. K. Greven: Z. exper. Med. **105**, 540 (1939). — 13) Frank, O.: Z. Biol. **71**, 256 (1920); **85**, 102 (1926); **88**, 105 (1928). — 14) Wezler, K.: Ebenda **98**, 438 (1938). — 15) Frank, O.: Ebenda **32**, 370 (1895); **37**, 483 (1899). — 16) Volkmann: Die Hämodynamik 1850. — 17) Wezler, K., u. A. Böger: Erg. Physiol. usw. **41**, 506 (1939). — 18) Evans, C. L.: J. Physiol. (Brit.) **49**, 378 (1914). — 19) Rein, H.: Ges. Wiss. Göttingen, Math.-Physik. Kl., Nachr. Biol. **3**, 209 (1939). — 20) Gauer, O., u. K. Kramer: Pflügers Arch. **242**, 328 (1939). — 21) Frank, O.: Z. Biol. **44**, 445 (1903). — 22) Broemser, Ph.: Ebenda **96**, 1 (1935). — 23) Wiggers, C. J.: The Pressure Pulses in the Cardiovascular System, London 1928. — 24) Katz, L. N.: Amer. J. Physiol. **80**, 470 (1927). — 25) Frank, O.: Z. Biol. **54** (1910). — 26) Wezler, K., u. A. Böger: Siehe Tabelle 78, Erg. Physiol. usw. **41**, 582 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Münster i. W.

Zur Frage der Potentialgiftwirkungen.

Von

L. Lendle.

Mit 3 Textabbildungen (7 Einzelbildern).

(Eingegangen am 1. Februar 1941.)

Beim Studium der Wirkungen von synthetischem Muskarin am Aplysienherzen hat W. Straub [1] auf die Tatsache aufmerksam gemacht, daß die stärkste Wirkung dieses Giftes in den ersten Minuten seiner Einwirkung erfolgt, wenn die aus dem Kanüleninhalt in den Herzmuskel aufgenommene Giftmenge noch minimal ist, während später nach der maximalen Speicherung des Giftes seine Wirkung schon weitgehend abgeklungen sein kann. Straub deutete diese Beobachtung so, daß nicht die ruhende Anwesenheit des Giftes im Muskel, sondern der beim Ausgleich des Konzentrationspotentials erfolgende Giftdurchtritt durch die Membranen die Wirkung auslöse.

Die Möglichkeit solcher „Potentialgiftwirkungen" als eine besondere Form von pharmakologischer Reaktion gegenüber den sogenannten „Konzentrationsgiften" oder chemisch reagierenden Stoffen ist später vielfach erörtert worden (Clark [2], Jendrassik [3], Heubner [4], Laubender [5] u. a.). In den letzten Jahren haben Gremels [6] und seine Mitarbeiter die physiologische Bedeutung eines solchen Potentialstoffcharakters gerade für die sogenannten „Überträgerstoffe" der Nervenreizwirkung, das Azetylcholin und das Adrenalin betont. Deren schnelle Zerstörung im Zellstoffwechsel durch die Esterasespaltung bzw. Oxydation soll bei einer Dauerbildung der Stoffe im Nervenende das für einen wirksamen Dauertonus erforderliche Potential aufrecht erhalten. Diese Auffassung vom Potentialstoffcharakter der Überträgerstoffe wurde von Gremels noch bereichert durch die Annahme, daß gewisse Pharmaka in selbst noch unwirksamen Konzentrationen die Wirkung der Potentialstoffe zu beeinflussen vermögen. Sie können nämlich die Permeabilität der Zellmembranen fördern oder hemmen und dadurch die Wirkung der Potentialstoffe durch Änderung der Ausgleichsbedingungen abschwächen oder verstärken. Als derartige „Zustandsstoffe" werden z. B. Digitalis, Harnstoff, Narkotica u. a. aufgefaßt (Gremels [7], Heim [8], Zinnitz [9]).

[1] Straub, W.: Pflügers Arch. **119**, 127 (1909). — [2] Clark: General Pharmac. in Handb. exper. Pharmak., Erg.-Werk IV, Berlin 1937. — [3] Jendrassik, L.: Biochem. Z. **148**, 116 (1924); Jendrassik, L., u. Annan: Ebenda **162**, 207 (1925). — [4] Heubner, W. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **138**, 152. — [5] Laubender, W.: Kolloid-Z. **89**, 287 (1939). — Gremels: Erg. Physiol. usw. — [7] Gremels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 360 (1935). — [8] Heim: Ebenda **191**, 212 (1938) u. **192**, 1 (1939). — [9] Zinnitz: Ebenda **189**, 697 (1938) u. **182**, 339 (1936).

Straub[1] selbst hatte schon in diesem Sinne die dem Muskarin antagonistische Wirkung des Atropins als eine Hemmung für den Durchtritt des Muskarins durch die Zellmenbranen zu erklären versucht. Freilich ist zu bedenken, daß das Atropin auch nach längerer Einwirkungszeit von Muskarin, also wohl nach weitgehend erfolgtem Ausgleich antagonistisch wirkt. Neuestens hat nun auch Jung[10] für den Harnstoff nachgewiesen, daß dessen hemmende Wirkung gegenüber der Vagusreizwirkung am isolierten Froschherzen nicht auf seiner Eigenschaft als Zustandsstoff (Permeabilitätsförderung) beruht. Wenn nämlich nach längerer Einwirkung von Doryl am Froschherzen eine partielle Abnahme der Kontraktionen erfolgt war, konnte diese Hemmung auch bei nachträglichem Zusatz von Harnstoff weitgehend aufgehoben werden. Harnstoff besitzt selbst fördernde Wirkungen auf die Herztätigkeit, welche der Dorylreaktion physiologisch entgegentreten.

Es gibt auch mancherlei andere theoretische Einwände, welche der Potentialstofftheorie noch entgegenstehen. Gerade für das Azetylcholin, dessen Esterasespaltbarkeit durch Eserin gehemmt werden kann, müßte man nach dieser Theorie ja annehmen, daß bei der Eserinvorbehandlung eines Organs die Azetylcholinwirkung nicht verstärkt oder auch verlängert werden kann, weil ja das Gefälle nicht mehr durch den intracellulären Abbau des Giftes aufrecht erhalten wird. Es müßte vielmehr bei dem hohen Diffusionsvermögen des Azetylcholins schnell ein Verteilungsgleichgewicht mit Aufhören der Potentialstoffwirkung eintreten*. Ein praktischer Gegenbeweis findet sich am eserinbehandelten Auge mit seiner Dauermiosis. Hier müßte im Auge, wo auch die Abdiffusion von freigesetztem Azetylcholin aus den Occulomotoriusendigungen gering ist, die Vaguswirkung verschwinden.

Im folgenden wird über einige Beobachtungen mit Azetylcholin am isolierten Froschherzen und über Wirkungen von Adrenalin an den Gefäßen des isolierten Kaninchenohres berichtet, die wohl auch nicht im Sinne einer Potentialgifttheorie zu deuten sind.

I. Acetylcholinwirkung am isolierten Froschherzen.

Die Grundbeobachtungen von Straub[1], daß bei der Dauereinwirkung von Muskarin am isolierten Herzen ein spontanes Aufhören der Herzlähmung erfolgen kann, obgleich der Vagusreizstoff noch in genügender Menge im Herzmuskel anwesend ist, stellt eine Parallele zu der alten Erfahrung dar, daß eine elektrische Dauerreizung des Vagus nur für kurze Zeit zu einem Herzstillstand führt.

[10] Jung, Fr.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 302 (1940).

* Ich entsinne mich hier eines früheren Einwandes von O. Gros, daß vom physikalisch-chemischen Standpunkt aus überhaupt nur ein dynamisches Verteilungsgleichgewicht bestehen kann, daß also niemals eine Diffusionsruhe eintreten wird, wie das die Potentialtheorie annimmt. Freilich wird die wechselweise Diffusion in diesem Gleichgewichtszustand nur sehr gering sein im Vergleich zu dem Abströmen in den ersten Stadien bis zum Ausgleich.

Loewi[11] hat diese beiden Feststellungen im Anschluß an die ältere Auffassung von Hough[12] als eine „wachsende, durch die Hemmung gesetzte Intensitätssteigerung der Funktion der reizbildenden Apparate" gedeutet. Seine Beweisführung, die sich auf eine Verstärkung der Vagusreizreaktion durch automatie-dämpfende Narkotica und auf eine Abschwächung der Vagusreizwirkung durch automatiefördernde Stoffe wie Campher gründet, mag nicht ganz befriedigen.

Kahlson[13] hat vor einigen Jahren zu dieser Auffassung von Loewi Stellung genommen. Er meint, bei einer Anerkennung dieser These, daß die Hemmungsreizung des Vagus durch eine verstärkte Reizbildung abgeschwächt werde, „wäre die Beziehung zwischen Wirkungsintensität und Anflutungsgeschwindigkeit rein zufälliger Natur, Testobjekt und wirksames Kriterium wären unbrauchbar, um überhaupt auf eine Potentialgiftwirkung zu schließen". Eine wirkliche Widerlegung der Tatsachen von Loewi bringt Kahlson in seiner Arbeit nicht, die nur andere experimentelle Beweise für die Potentialtheorie vorlegt.

Eigene vielfache Erfahrungen über die Erholungsfähigkeit des isolierten Froschherzens bei langdauernder Einwirkung der verschiedensten Gifte in lähmenden Grenzkonzentrationen (Narkotica, Digitalis, Muskarin u. a.) hatten mich auch auf die Bedeutung einer gesteigerten Reizbildung aufmerksam gemacht. Es kommt unter solchen Bedingungen trotz Anwesenheit der vollen Giftkonzentration, also ohne Abbau des Giftstoffes in der Kanüle zur gruppenweisen Automatie und schließlich auch zur regelmäßigen Schlagfolge ohne längere diastolische Pausen*. Diese Herztätigkeit ist keineswegs nur eine ventrikuläre Automatie, sondern kann auf einer normalen Folge von Vorhof-Kammer-Reaktionen beruhen. Ähnliche Beobachtungen sind wohl allgemeiner für länger anhaltende Teilschädigungen unter der Bezeichnung „Lucianische Perioden" beschrieben worden (vgl. S. 527). Darauf soll noch später Bezug genommen werden.

Wenn die Erscheinungen der Potentialgiftwirkung im Sinne der Loewischen[11] Vorstellung an die Automatievorgänge gebunden sind, dann müßten sie unter sonst gleichen Bedingungen am künstlich gereizten Ventrikelpräparat ausbleiben. Kahlson[13] hat selbst schon Versuche mit Cholin am gereizten Froschherzventrikel ausgeführt und dabei chronaxiemetrisch eine Abnahme der Erregbarkeit des Muskels beobachtet, die aber für die „Einmarschphase" und „Gleichgewichtsphase" keinen Unterschied erkennen ließ, also abweichend von dem Verhalten der Potentialstoffwirkung des Cholins. Kahlson meint, diese „ statische" Wirkung des Cholins sei auch keine Vaguswirkung, weil diese die Chronaxie-

* Derartige Zustände hat O. Gros[14] z. B. bei der Ermittelung der Strophanthingrenzkonzentration am Froschherzen beschrieben.

[11] Loewi, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **70**, 321 (1912). — [12] Hough: J. Physiol. (Brit.) **18**, 161 (1895). — [13] Kahlson: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 44 (1933). — [14] Gros, O.: Ebenda **71**, 364 (1913).

werte hätte senken müssen. Eine Kontrolle dieser ablehnenden Auffassung durch eine Atropinbehandlung des Präparates hat er anscheinend leider nicht vorgenommen.

Methodisches: Die folgenden Versuche wurden im Sommer 1938 an Esculenten und im Winter 1940 an Temporarien vorgenommen. An der Straub-Kanüle wurden die isolierten Herzen mit je 1,0 ccm bicarbonatfreiem Ringer mit entsprechendem Giftzusatz beschickt oder sie wurden mit einer Giftlösung durchströmt unter Nachlauf aus einer Vorratsflasche bei gleichzeitigem Absaugen des Kanüleninhaltes auf konstantes Niveau. Als Vagusreizstoff wurde entweder Azetylcholin (A. Ch. bezeichnet) allein oder zusammen mit Eserin (mit E. bezeichnet) geprüft. Die elektrische Reizung der Ventrikelpräparate (Stannius II) erfolgte mittels Induktionsöffnungsschlägen unter Ausblenden der Schließungsreize. Die Frequenz der Reizung betrug 20—25. Reizelektroden waren Platindrähte am Vorhof und an der Kammergrenze.

a) Versuche an spontan schlagenden Herzen.

Wechselt man die Ringerlösung in der Kanüle gegen eine geeignete Konzentration von A.Ch. aus, so tritt in wenigen Sekunden nach sofort erfolgender Verminderung der Kontraktionshöhe, z. T. auch nach Verlangsamung der Schlagfolge ein diastolischer Stillstand ein. Dafür sind A.Ch.-Konzentrationen von 10^{-7}—10^{-9} erforderlich. Dieser Stillstand wird meist nach wenigen Minuten von einzelnen oder gruppenweisen Kontraktionen der Kammer durchbrochen (der Vorhof kann dabei noch mit ursprünglicher Frequenz schlagen) und bald tritt wieder eine regelmäßige Folge höherer Kontraktionen auf. Die Vaguswirkung ist also auch ohne Waschen mit Ringer zum großen Teil reversibel.

Für diese schnelle Erholung können wir heute wohl vorwiegend den schnellen Abbau des A.Ch. durch die Esterase verantwortlich machen. Wiederholte Gaben der gleichen Giftkonzentration können das gleiche Wirkungsbild auslösen. Wird der A.Ch.-Lösung aber Eserin zugesetzt in Mengen von $^1/_{400000}$—$^1/_{200000}$, dann wird die Vagusreizwirkung des A.Ch. wesentlich verlängert, weil die Esterasespaltung aufgehoben ist. Die Wirkungsstärke selbst ist jedoch nicht erheblich vergrößert. Die erforderlichen Konzentrationen von A.Ch. liegen im oben genannten Bereich. Auch unter diesen Bedingungen kann aber mehr oder weniger schnell eine partielle Erholung erfolgen. Wenn die Vagusreizwirkung zu stark war, bleibt sie aus, wenn sie aber so gering war, daß kein vollständiger Stillstand eintrat, sondern nur eine starke Verkleinerung der Kontraktionen und eine Verlangsamung der Schlagfolge, dann kann man sie am deutlichsten erkennen. Wiederholte Gaben ohne Zwischenwaschungen mit Ringerlösung können die Vaguswirkung noch vertiefen, bis ein Maximum erreicht ist. Auch dann kann bei längerer Beobachtungsdauer noch eine partielle Erholung eintreten. Häufig tritt aber zunächst ein Stadium der gruppenweisen Kontraktionen mit diastolischen Pausen auf und dann erst wieder die regelmäßige Schlagfolge.

Für diese partiellen Erholungsvorgänge nach Einzelgaben könnte neben der schon erörterten Potentialstofftheorie auch die folgende Erklärung angenommen werden: die volle Giftkonzentration trifft zunächst die im Herzen oberflächlich liegenden Reizleitungs- und Bildungsstellen, an denen auch die peripheren Vagusfasern ihren Angriff finden. Nach weiterem Diffusionsausgleich wird mehr Gift an die tieferen Muskelschichten abgegeben und damit die am Vagusort einwirkende Konzentration vermindert. Es würde also nicht die Aufhebung der Giftdiffusion, sondern das Absinken der Giftkonzentration am Wirkungsort selbst das Entscheidende sein für das Nachlassen der Wirkung in diesem Stadium. Um diese Möglichkeit auszuschalten, wurden weitere Versuche an denselben Herzen unter Durchströmung mit der gleichen Giftkonzentration ausgeführt.

Unter diesen Bedingungen wurden ähnlich, aber schneller als bei den Versuchen mit wiederholten Gaben ohne Zwischenwaschungen mit Ringer maximale Vergiftungszustände erreicht (mit starker Kontraktionsverminderung und auch gruppenweiser Automatie). Diese Wirkung des Vagusreizgiftes hielt oft 20—60 Minuten lang an*. Allmählich stellte sich aber doch eine Besserung ein. War die Schädigung nicht zu groß, dann kam es zu einer weitgehenden Erholung trotz unverminderter Gifteinwirkung und obwohl mit einem „Hypodynam-Werden" des Herzens infolge der Ausspülung gerechnet werden konnte.

Als Beispiel für solche Versuchsergebnisse seien einige Protokollauszüge und Kurven beigefügt:

Versuch am 15. August 1938, Esculentenherz.

10^{37} Zugabe von 1,0 ccm A. Ch. $2 \cdot 10^{-8}$ nach schnellem Absinken der Kontraktionshöhe diastolischer Stillstand in 1 Minute. Nach 15 Sekunden Wiederkehr der Automatie.

10^{45} weitgehende Erholung, 10^{49} Ringerspülung.

10^{51} Durchströmung mit A. Ch. $2 \cdot 10^{-8}$; nach wenigen Sekunden erfolgt diastolischer Stillstand, 1—2 Minuten später beginnt gruppenweise die Automatie mit mittelgroßen Kontraktionen. Dieser Zustand hält sich bis 12^{13}. Nach Stillegung der Durchströmung erfolgt dann eine volle Erholung. Nach erneuter Durchströmung wiederum Gruppenstadium. Ab 12^{33} aber dann regelmäßige Automatie mit noch abgeschwächten Kontraktionen.

Versuch am 6. Dezember 1940 (vgl. Kurvenbild Nr. 1).

Die Durchströmung mit A. Ch. $5 \cdot 10^{-8}$ und Eserin $5 \cdot 10^{-6}$ verursachte in etwa 1 Minute einen diastolischen Stillstand, der nach 6 Minuten abklang. Die Kontraktionsleistung nahm in den folgenden 50 Minuten noch ständig zu. Eine volle Erholung erfolgte nicht. Das gleiche Herz wurde anschließend noch für einen Versuch am gereizten Ventrikel verwendet (vgl. Kurve 2).

[15] Loewi, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **70**, 351 (1912).

* Anmerkung: Es ist schon von Loewi[15] beschrieben worden, daß die Vagusreizwirkung am Froschherzen wesentlich langsamer abklingt als am Warmblüterherzen.

Viele weitere Versuche brachten das gleiche Ergebnis: Auch bei Dauereinwirkung von A. Ch. unter Eserinmitwirkung kam es fast immer zu einer mehr oder weniger starken Erholung von der Vagusreizung, falls die Giftkonzentration nicht zu hoch gewählt worden war. Die Empfindlichkeit der Herzen wurde dabei immer in Vorversuchen mit Einzelgaben vor der Durchströmung ausgeprobt.

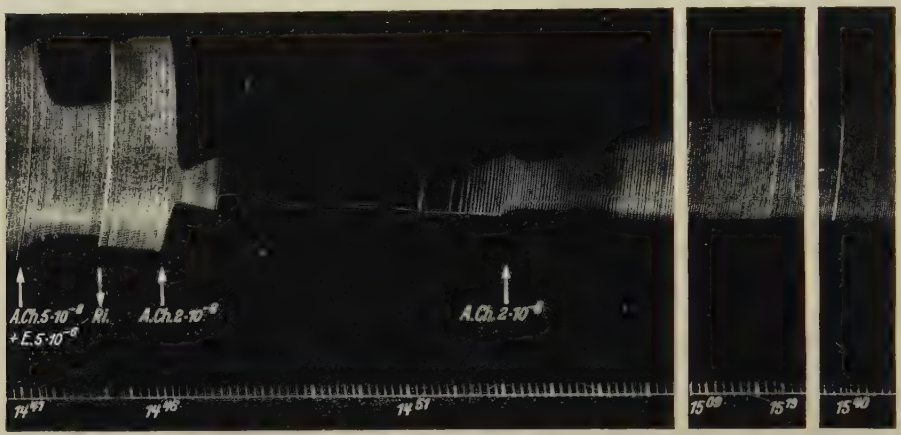


Abb. 1. Versuch am 6. Dezember. Temperaturherz spontan schlagend. Zeitmarkierung 10 Sek
14^{41} Füllung 1 ccm Acetylcholin $5 \cdot 10^{-8}$ + Eser. $5 \cdot 10^{-6}$ *Ri* = Ringerspülung.
14^{46} Beginn der Durchströmung mit der gleichen Acetylcholinlösung.

Es war nunmehr die entscheidende Frage zu prüfen, ob die gleichen Erholungsvorgänge sich auch am künstlich gereizten Präparat erzielen lassen.

b) Versuche am gereizten Ventrikelpräparat.

Nach der Eingabe von 1,0 ccm einer A. Ch.-Lösung mit Eserinzusatz trat mehr oder weniger schnell eine Abnahme der Kontraktionshöhe auf, gegebenenfalls bis zum diastolischen Stillstand. Die erforderlichen Konzentrationen waren etwa die gleichen wie am spontan schlagenden Herzen. In den Versuchen, wo das gleiche Herz zunächst mit spontaner Automatie und dann nach Stannius-Ligatur verwendet wurde, war auch meist kein wesentlicher Unterschied in der Empfindlichkeit der Herzen gegenüber dem A. Ch. festzustellen.

In diesen Versuchen trat keine spontane Erholung wie am normal schlagenden Herzen auf, niemals stellen sich gruppenweise Kontraktionen ein, da die künstliche Reizstärke konstant blieb. Am Beginn der Versuche war häufig ein kurzes Wirkungsmaximum zu erkennen, dessen Abklingen vermutlich auf der primären Übersättigung der oberflächlich gelegenen Nervenendgebiete des Vagus beruhte (vgl. die Deutung auf S. 523). Dann stellte sich ein gleichmäßiges Niveau der Kontraktions-

größe ein; gelegentlich nahm diese noch fortlaufend ab, niemals aber zeigte sich eine ansteigende Erholung.

Als Beispiel für derartige Beobachtungen dient der Versuch vom 6. Dezember 1940 (vgl. Kurve 2), der nach Stanniusligatur am selben Herzen wie der oben beschriebene Versuch (vgl. Kurve 1) ausgeführt wurde. Die gleiche A.Ch.-Lösung führte nicht zum diastolischen Stillstand, aber zu einer sehr starken Verminderung der Kontraktionsgröße, die über 60 Minuten hinaus keine Neigung zur Erholung erkennen ließ. Diese negativ inotrope Wirkung von konstanter Stärke ist eine Vagusreizwirkung wie die am Schluß des Versuches ausgeführte Atropinreaktion bewies. 1 gtt. Atropin. sulf. $^1/_{100000}$ zum Kanüleninhalt gegeben, ließ schnell die ursprüngliche Kontraktionshöhe wiederkehren.

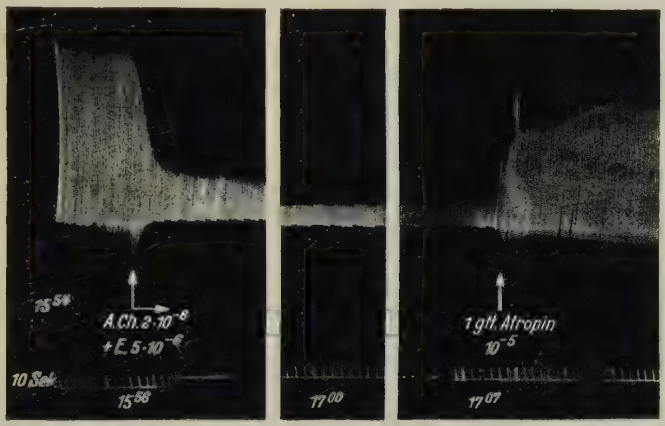


Abb. 2. Versuch am 6. Dezember: Dasselbe Herz wie in Abb. 1. Künstlich gereizter Ventrikel. 15^{56} Beginn der Durchströmung mit Acetylcholin $2 \cdot 10^{-8}$ + Eser. $5 \cdot 10^{-6}$. 17^{07} Atropinzusatz 1 gtt. 1/100000. Zeitmarkierung 10 Sek.

Weitere Versuche bestätigten diese Ergebnisse. Die Versuche mit der Prüfung am Ventrikelpräparat wurden nicht alle mit den gleichen Herzen ausgeführt, die schon vorher für die Untersuchung der Beeinflussung der normalen Tätigkeit gedient hatten, weil ja die Möglichkeit bestand, daß dann bei längerer Vorprüfung die Herzen schon geschädigt wären und eine ungenügende Erholungsfähigkeit zeigen könnten. Es wurden daher auch mehrere Versuche an frisch präparierten Herzen nach sofortiger Stanniusligatur vorgenommen.

Ein Beispiel dafür sei noch in Kurvenbild 3 wiedergegeben. Auch in diesen Versuchen trat weder nach Einzelgaben, noch bei der Durchströmung mit A.Ch. eine spontane Besserung auf. Am Versuchsende hob wieder der Atropinzusatz die Vagushemmung der Muskelkontraktion völlig auf.

Diese Feststellung steht im Gegensatz zu den Angaben von Kahlson[13], daß das Cholin, welchem eine ähnliche Wirkung wie dem A.Ch.

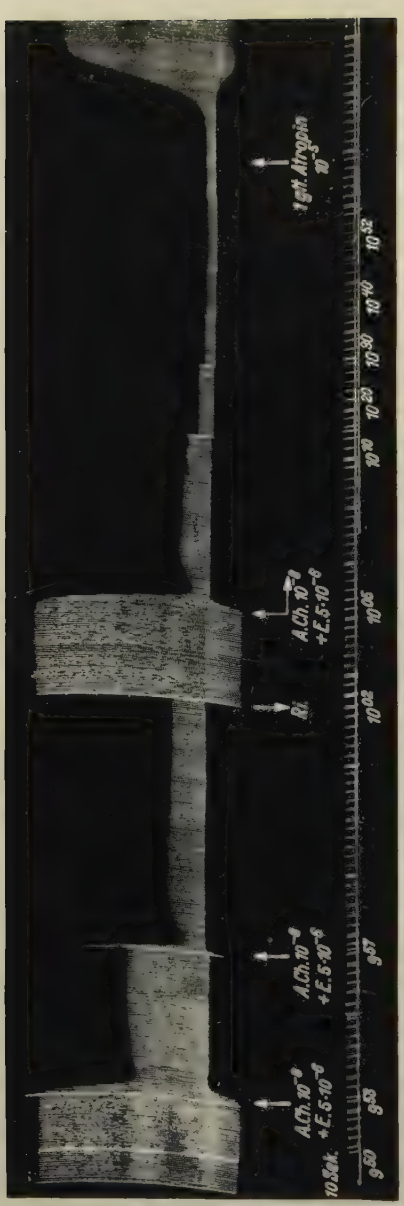


Abb. 3. Versuch am 7. Dezember: Frisches Temporarienherz, Ventrikel gereizt, Zeitmarkierung 10 Sek.
9^{53} und 9^{57} je 1 ccm Acetylcholin 10^{-8} + Esser. $5 \cdot 10^{-6}$
10^{05} Durchströmung mit derselben Acetylcholinlösung.
10^{53} Atropinzusatz 1 gtt. 1/100000.

zugeschrieben werden muß, auf die Reizbildung eine hemmende Vaguswirkung von Potentialgiftcharakter und auf die Erregbarkeit des Muskels eine hemmende Wirkung von Nicht-Potentialgiftcharakter besitzt. die auch nicht über den Vagus zustande kommen soll. In meinen Versuchen habe ich die Erregbarkeit des Herzmuskels bei der künstlichen Reizung nicht kontrolliert. Es wurde dabei mit überschwelligen Reizen gearbeitet. Am Schluß der Versuche erwies sich in mehreren Versuchen die Kontraktionsleistung vor dem Atropinzusatz auch bei gesteigerter elektrischer Reizung nicht vergrößert. Die Verkleinerung der Kontraktionshöhe scheint also nicht durch eine Beeinflussung der Erregbarkeit des Muskels bedingt zu sein. Nur bei einem Versuch, bei dem eine lange Durchströmung ausgeführt worden war, konnten am Schluß nach Steigerung der Reizstärke noch verbesserte Kontraktionen erzielt werden. In diesem Falle war aber anscheinend das Präparat schon geschädigt, denn nach Abbrechen der Durchströmung mit A. Ch. trat unter Ringer auch keine weitere Besserung mehr auf, während dies in anderen Versuchen durchweg der Fall war.

c) Erörterung der Befunde.

Aus den vorgelegten Befunden muß geschlossen werden, daß die negativ inotrope Vaguswirkung des A. Ch. auf die gereizte Muskulatur des Herzventrikels kein Anzeichen für ein spon-

tanes Abklingen dieser Vaguswirkung bietet. Hier ist also auch kein äußerlich einer Potentialgiftreaktion gleichendes Bild nachweisbar. Für die hemmende Vaguswirkung am spontan schlagenden Herzen war jedoch ein Abklingen der Wirkung zu erkennen, obwohl hier mit einer unveränderten Giftkonzentration über lange Zeit gearbeitet wurde. Diese Erholung kann aber wohl im Sinne Loewis als eine verstärkte Reizbildung in den Automatiezentren des Herzens aufgefaßt werden.

In der häufig beobachteten Phase der Gruppenautomatie ist die nachwirkende Vagusreizung noch erkennbar, sie wird nur durch den Versuch einer aktiven Gegenwirkung unterbrochen. Dabei ließen sich oft Erscheinungen der „Ermüdung" dieser Automatie beobachten. Die ersten Kontraktionen einer solchen Gruppe waren, zum Teil nach einer „Treppe", meist am größten, die folgenden klangen wieder ab, bis erneut der diastolische Stillstand auftrat. Ein solches Verhalten ist seit langem bekannt bei den Lucianischen[16] Perioden am geschädigten Herzen.

Über deren Deutung ist in der physiologischen Literatur mancherlei ausgesagt worden, ohne daß bisher eine Klarstellung erfolgte. Die gruppenweise Automatie ist zuerst von Luciani[16] für die Kammertätigkeit an dem des Sinus beraubten Froschherzen beschrieben worden. Öhrwall[17] hat die periodische Rhythmik des Herzens auf Erregbarkeitsschwankungen des Herzmuskels zurückzuführen gesucht. Später hat sich Langendorff[18] mit einer Analyse dieser Gruppenbildung, die sich am erstickenden Froschherzen erzeugen und durch O_2-Zufuhr wieder beseitigen ließ, befaßt. Er stellte fest, daß der Herzmuskel auch in der Pause zwischen den periodischen Gruppen erregbar ist und betrachtete entgegen Öhrwall eine mangelhafte Tätigkeit der Automatiezentren als Ursache der periodischen Kammerautomatie. Die gebildeten Reize könnten hier nicht in gleicher Weise abströmen, sondern könnten sich nur in gewissen Abständen, wenn sie eine größere Stärke erreicht haben, explosionsartig entladen. Gegen diese Auffassung hat später Schellong[19] mit dem Hinweis darauf Stellung genommen, daß die Reizfrequenz in der Mitte einer solchen Gruppe von Kontraktionen am größten sei. Er konnte bei elektrokardiographischer Registrierung Lucianische Perioden am absterbenden Menschherzen beobachten. Nach seiner Analyse handelte es sich dabei um Schwankungen im Verhältnis der Reizstärke zur Erregbarkeit. Der Sinus bildete unregelmäßige und in ihrer Stärke periodisch an- und abschwellende Reize. Wurden die Reize so schwach, daß sie für die gleichfalls schwankende Reizbarkeit der Herzmuskulatur unterschwellig wurden, so sprang die Automatie des Tawara-Knotens ein, bis die Sinusreize wieder überschwellig wurden.

Nach dieser Darstellung wäre die Gruppenperiodik also nicht an die ventrikuläre Automatie gebunden, sondern an die primäre Reizbildung im Sinus. Daneben sollen aber auch Erregbarkeitsschwankungen der Muskulatur mitspielen. Bei diesen Erregbarkeitsschwankungen sind offensichtlich auch Ermüdungsreaktionen von Bedeutung. So haben Ashmann und Hafkesbring[20] besonders auf das Abklingen der Kontraktionsstärke im Verlauf der einzelnen Gruppen hingewiesen. Sie nehmen an, daß diese Automatie in abnormen Reizbildungsherden entsteht. Bei Reizung in den Pausen kann die zu erwartende Periode gehemmt werden.

---

[16] Luciani: Ber. sächs. Ges. Wiss., math.-phys. Kl., 1873, S. 11; zit. nach Langendorff. — [17] Ohrwell: Skand. Arch. Physiol. **8**, 1 (1898). — [18] Langendorff: Pflügers Arch. **121**, 54 (1908). — [19] Schellong: Z. exper. Med. **36**, 297 (1923). — [20] Ashmann u. Hafkesbring: Zit. nach Handb. d. norm. u. path. Phys. VII, 1, S. 532.

Periodische Automatie haben Abderhalden und Gellhorn[21] sowie Machiela[22] auch am isolierten Herzmuskelstreifen nach Schädigung durch Gifte, Sauerstoffmangel oder mechanische Verletzungen beobachten können. Als Ursache wurde eine Verminderung der Erregbarkeit in den Automatiezentren angenommen. Pharmaka, welche die Automatiebildung anregen, wie z. B. Strophanthin, Bariumchlorid, Adrenalin u. a., vermochten die Pausen zwischen den Gruppen zu beseitigen, ebenso wie die Sauerstoffzufuhr am erstickenden Präparat.

Auch unsere Versuche haben keinen Beweis dafür liefern können, daß die Gruppenautomatie eine Folge von Erregbarkeitsschwankungen der Muskulatur allein ist, sonst hätte sie sich wohl auch bei der künstlichen Reizung unter der Giftwirkung in ähnlicher Weise äußern können. Um eine Kammerautomatie handelte es sich nur gelegentlich; in den meisten Fällen schien eine regelmäßige Beziehung zwischen Vorhofs- und Kammertätigkeit zu bestehen. Eine elektrokardiographische Analyse wäre wünschenswert, weil dann die Frage einer heterotropen Reizbildung, welche vielleicht auf hemmende Vagusreize nicht anspricht, sicherer geklärt werden können.

Auch aus vielen älteren Untersuchungen, die das Wesen der Herzautomatie nach Ursprungsort und selbstauslösenden Momenten im Stoffwechsel der Zelle zu klären versuchten, läßt sich keine sichere Feststellung entnehmen, die zur Deutung der gruppenweisen Automatie am geschädigten Herzen genügen könnte. In einer neuesten Studie von Bethe[23] werden die rhythmischen Vorgänge in Organen mit Entladungen eines elektrischen Kippsystems verglichen und Parallelen zwischen Rhythmusstörungen am biologischen Objekt und dem Verhalten an Modellen von gekoppelten Kipp-Schwingungssystemen bei einfachsten Eingriffen wie Frequenzbeeinflussung oder Verlangsamung der Aufladungsgeschwindigkeit beschrieben. Es scheinen sich aber dabei keine Möglichkeiten für die Reproduktion und Erklärung des bekannten „Treppenphänomens" und der Lucianischen Perioden ergeben zu haben. Immerhin ist aber in der Darstellung der Grundgedanke, daß bei der rhythmischen Automatie irgendwelche „Aufladungsvorgänge" die Voraussetzung der plötzlichen Entladungen sein können, sehr anschaulich begründet.

Es mag möglich sein, daß diese Aufladungsvorgänge nur zeitweilig in genügendem Ausmaß und genügender Geschwindigkeit verlaufen, so daß dann Entladungen zustande kommen. In der Zwischenpause wird die Grenze der Erregbarkeit des Systems vielleicht nicht erreicht. Auf ein solches Versagen deutet vielleicht auch die absinkende Kontraktionsleistung im Verlauf einer Gruppe hin. Ferner spricht der Übergang zu einer gruppenlosen Automatie nach Behandlung mit sogenannten Herzanaleptika (vgl. bei Machiela[22]) auch für eine partielle Insuffizienz in der Automatiebildung*.

II. Adrenalin am isolierten Kaninchenohr

(nach Versuchen von H. G. Holzhausen und H. Puhlmann).

Nach der Auffassung von Straub, Gremels[6] u. a. gehört auch die Gefäßwirkung des Adrenalins zu den Potentialstoffwirkungen. An dem Gefäßpräparat des isolierten Kaninchenohres lassen sich quantitative

[21] E. Abderhalden u. Gellhorn: Pflügers Arch. **183**, 303 (1920). — [22] Machiela: Z. exper. Med. **14**, 287 (1921). — [23] Bethe: Pflügers Arch. **244**, 1 (1940); Klin. Wschr. **1941**, S. 33.

* Anmerkung: Bethe selbst hat übrigens für die gelegentliche Gruppenautomatie bei intakten Medusen angenommen, daß die Automatie vielleicht in der Pause doch weiter gehe und daß der Ausfall peripher bedingt sein könne.

Untersuchungen über die Beeinflussung der Adrenalinempfindlichkeit in einfachster Weise durchführen. Man konnte mit diesem Verfahren auch einige sogenannte „Zustandsstoffe" prüfen, deren permeabilitätsbeeinflussende Wirkung die Potentialgiftreaktionen quantitativ bestimmen soll (vgl. S. 519).

Es war nach dieser Vorstellung anzunehmen, daß Pharmaka, welche die Permeabilität fördern oder zu stark hemmen, die Adrenalinempfindlichkeit herabsetzen müssen, während Stoffe, welche die Permeabilität nur wenig hemmen, die Adrenalinempfindlichkeit erhöhen. Bei einer Kombination von Stoffen, welche sich an der Permeabilität im gegenseitigen Sinne äußern, war möglicherweise eine Aufhebung ihrer Wirkungen zu erwarten.

Als solche die Permeabilität beeinflussende Zustandsstoffe konnten nach Gremels[6, 7], Heim[8] u. a. z. B. Digitalisglykoside, Harnstoff, Narkotica, Coffein usw. gelten. Für Pyramidon ist von der Eppingerschen[24] Schule schon eine permeabilitätshemmende Wirkung auf die Gefäße nachgewiesen worden, während für das Coffein in höheren Gaben auf Grund der älteren Versuche von Fröhlich und Zak[25] vielfach eine Permeabilitätserhöhung an den Gefäßen angenommen wird. Gremels[6] spricht sich dagegen in seiner letzten Darstellung nach anderen Literaturangaben über entquellende Reaktionen des Coffeins an der Skeletmuskulatur für eine permeabilitätshemmende Eigenschaft dieses Stoffes aus. Er konnte dementsprechend auch nach kleinen Gaben des Coffeins eine Förderung und nach großen Gaben eine Abschwächung bis zur Aufhebung von Vagusreizwirkungen beobachten.

Mit einem Teil der genannten Stoffe konnten Lendle und Puhlmann[26] schon in früheren Versuchen am Kaninchenohrpräparat keine Beeinflussung der Adrenalinempfindlichkeit auch bei längerer Durchströmungsdauer feststellen, z. B. für den Harnstoff und für Digitoxin in verschiedenen Dosierungsbereichen. Für narkotische Stoffe (Urethan und Veronal) wurde mit gewissen Konzentrationen, welche auch schon den noch vorhandenen Tonus der glatten Muskulatur lähmend beeinflußten, Abschwächungen der Adrenalinempfindlichkeit erzielt. In der gleichen Untersuchung wurden auch mit Pyramidon und Coffein starke Abschwächungen der Adrenalinwirkung beobachtet. Von Coffein waren 0,012% und vom Pyramidon 0,03% als Grenzkonzentrationen dafür ausreichend. Stärkere Konzentrationen dieser Stoffe hoben auch die Wirkung höchster Adrenalingaben nahezu völlig auf. Diese Wirkung war bei Durchströmung mit Ringerlösung fast vollkommen reversibel. An diese Versuchsergebnisse konnte mit den oben gestellten Fragen angeschlossen werden.

---

[24] Eppinger u. Mitarb.: Klin. Wschr. **1934**, S. 1105 u. 1137. — [25] Fröhlich, A., u. E. Zak: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **121**, 108 (1927). — [26] Lendle, L. u. Puhlmann, H.: Ebenda **193**, 122 (1933).

Methodisches: Kaninchenohren wurden in der üblichen Weise nach Krawkow und Pissemski[27] präpariert und durchströmt. Nach Einstellung einer konstanten Adrenalinempfindlichkeit wurden die zu prüfenden Konzentrationen der verschiedenen Mittel zum Durchfluß eingeschaltet. Zu verschiedenen Zeiten wurden die Adrenalingrenzdosen ermittelt, welche die Durchströmungsgeschwindigkeit um 30—50% oder 50—100% herabsetzten. Der erste Grad wurde auch in den folgenden Tabellen mit (+) und der zweite Grad mit + bezeichnet. Die Änderungen der Adrenalinempfindlichkeit wurden ausgedrückt im Verhältnis der für diese Grenzwirkung erforderlichen Dosen. Später wurden dann bei Rückschaltung auf Ringer die Adrenalinempfindlichkeit kontrolliert.

a) Wirkung kleiner Konzentrationen von Pyramidon, Coffein und Atropin.

Für sogenannte Zustandstoffe, welche die Permeabilität der Membranen hemmen, wurde nach der Theorie angenommen, daß sie in höheren Konzentrationen die Wirkung der Potentialstoffe aufheben können, dagegen in kleineren Konzentrationen, die die Ausbildung von Potentialen durch eine geringe Permeabilitätshemmung fördern, verstärken. Diese Möglichkeit wurde für Pyramidon, Coffein und Atropin nachgeprüft. Als Beispiel für die Versuchsanordnung sei der nachfolgende Protokollauszug beigefügt.

Versuch XIV am 28. April 1939. Kaninchenohrgefäßpräparat.

Durchströmungsflüssigkeit	Dauer der Durchströmung	Tropfgeschwindigkeit gtt pro 10″	Adrenalingrenzdosierung		Adrenalinempfindlichkeit
			Menge	Wirkung	
Ringer	330′	7 — 8	$0{,}10\,^{1}/_{20\,000\,000}$	+, (+)	
Pyramidon 0,01 %..	18	8 — 9	$0{,}10\,^{1}/_{20\,000\,000}$	±	vermindert
Ringer	15	9	$0{,}10\,^{1}/_{20\,000\,000}$	(+)	erholt
Pyramidon 0,005 %.	32	10′	$0{,}10\,^{1}/_{20\,000\,000}$	(+)	unvermindert
Ringer	13	10 — 11	$0{,}10\,^{1}/_{20\,000\,000}$	(+)	„
Pyramidon 0,0025 %	15	10	$0{,}10\,^{1}/_{20\,000\,000}$	(+)	„
Ringer	28	10 — 11	$0{,}15\,^{1}/_{20\,000\,000}$	(+)	etw. vermindert

Die Ergebnisse weiterer derartiger Versuche sind in den Tabellen 1—4 zusammengefaßt. Sie zeigen, daß auch bei Durchführung über weite Konzentrationsbereiche, z. B. auch in Konzentrationen bis $^{1}/_{5}$—$^{1}/_{10}$ der hemmend wirkenden Grenzkonzentrationen von Pyramidon und Coffein keine Steigerung der Empfindlichkeit für Adrenalin zu erkennen ist. Nur in Versuch Nr. 15 ist einmal für Coffein 0,002% eine Steigerung auf das Doppelte zur Beobachtung gekommen. Auch für das Atropin, das erst in sehr hohen Konzentrationen ($^{1}/_{100\,000}$—$^{1}/_{300\,000}$) eine sichere Verminderung der Empfindlichkeit auslöste, war in Konzentrationen bis 1/10 Millionen keine Förderung festzustellen.

[27] Pissemski, S. H.: Pflügers Arch. **156**, 426 (1914).

Es gelang also nicht, mit sogenannten „Zustandsstoffen" in kleineren Konzentrationen eine Umkehr der hemmenden Wirkungen höherer Konzentrationen für die Adrenalinempfindlichkeit am Gefäßpräparat nachzuweisen.

Tabelle 1. Pyramidonversuche.

Nr.	Konzentration %	Dauer in Minuten	Abnahme der Adrenalinempfindlichkeit auf
11	0,4	30′	$^1/_{2000}$
11	0,2	30	$^1/_{17}$
8	0,2	36	$^1/_{20}$
8	0,1	32	$^1/_{30}$
1	0,1	32	$^1/_{8}$
20	0,1	50	$^1/_{20}$
2	0,08	26	$^1/_{20}$
9	0,075	54	$^1/_{6}$
4	0,060	38	$^1/_{7}$
2	0,060	31	$^1/_{20}$
10	0,050	35	$^1/_{10}$
9	0,050	41	$^1/_{8}$
8	0,050	28	$^1/_{4}$
11	0,050	44	$^1/_{15}$
12	0,030	28	$^1/_{6}$
3	0,030	31	$^1/_{20}$
13	0,010	36	$^1/_{4}$
14	0,010	18	$^1/_{2}$
11	0,005	32	—
19	0,005	34	—
13	0,003	29	$^1/_{4}$
14	0,0025	15	—
19	0,002	60	—

Ergebnis: starke Senkung der Adrenalinempfindlichkeit mit 0,08—0,2%, deutliche Senkung mit 0,010 -0,06%, keine Verminderung mit 0,002—0,003%.

Tabelle 2. Coffeinversuche.

Nr.	Konzentration %	Dauer in Minuten	Änderung der Adrenalinempfindlichkeit auf
15	0,01	27′	$^1/_{3}$
16	0,01	32	$^3/_{4}$
15	0,005	33	—
16	0,005	44	—
15	0,002	32	$^2/_{1}$
16	0,002	18	$^1/_{2}$
17	0,002	16	—
18	0,002	27	—
15	0,001	33	$^1/_{2}$
16	0,001	26	—
17	0,001	50	—
18	0,001	33	—

Tabelle 3. Atropinversuche.

Nr.	Konzentration	Dauer in Minuten	Änderung der Adrenalin-empfindlichkeit auf
19	$^1/_{100000}$	32′	$^1/_{10}$
20	$^1/_{100000}$	24	$^1/_5$
19	$^1/_{300000}$	35	$^1/_2$
20	$^1/_{300000}$	36	$^1/_2 - ^1/_3$
18	1: 1000000	48	—
17	1: 1000000	31	$^3/_5$
19	1: 3000000	35	+ 20 %
20	1: 3000000	34	$^2/_3$
18	1: 4000000	18	$^1/_3$
17	1: 4000000	49	$^1/_3$
19	1:10000000	36	—
20	1:10000000	40	—

Tabelle 4. Kombination von Pyramidon und Coffein.

Vers. Nr.	Durchströmung	Adrenalin-empfindlichkeit vermindert auf	Kombinations-effekt
I	Coffein 0,02 %	$^1/_8 - ^1/_{10}$	
	Pyramidon 0,1 %	$^1/_4 - ^1/_{10}$	
	Coffein 50 % + Pyramidon 50 %	$^1/_2$	unteradditiv
II	Coffein 0,015 %	$^1/_{10}$	
	Pyramidon 0,06 %	$^1/_{10}$	
	Coffein 100 % + Pyramidon 100 %	$^1/_{100}$	überadditiv
III	Coffein 0,015 %	$^1/_{10}$	
	Pyramidon 0,06 %	$^1/_{10}$	
	Coffein 100 % + Pyramidon 100 %	$^1/_5$	unteradditiv
IV	Coffein 0,020 %	$^1/_8 - ^1/_{10}$	
	Pyramidon 0,06 %	$^1/_8 - ^1/_{10}$	
	Coffein 100 % + Pyramidon 100 %	$^1/_8$	unteradditiv
IX	Coffein 0,03 %	$^1/_8$	
	Pyramidon 0,075 %	$^1/_6$	
	Coffein 50 % + Pyramidon 50 %	$^1/_5$	additiv
X	Coffein 0,03 %	$^1/_{10}$	
	Pyramidon 0,05 %	$^1/_8 - ^1/_{10}$	
	Coffein 100 % + Pyramidon 100 %	$^1/_{15}$	additiv
XII	Coffein 0,025 %	$^1/_6$	
	Pyramidon 0,03 %	$^1/_6$	
	Coffein 100 % + Pyramidon 100 %	$^1/_{30}$	überadditiv

b) Kombinationsversuche mit Pyramidon und Coffein.

Für beide Stoffe wurde in jedem Versuch bei 20—30 minutenlanger Durchströmung die Grenzkonzentration ermittelt, die die Adrenalinempfindlichkeit auf etwa $^1/_5$—$^1/_{10}$ herabsetzte. Dann wurde, immer nach Zwischenschaltungen einer Durchströmung mit Ringer, die Kombination beider Mittel geprüft. Dabei wurde so vorgegangen, daß beide Konzen-

Tabelle 5. Pyramidon auf die Adrenalin- und Bariumchloridempfindlichkeit der Gefäße.

Nr.	Durchströmung	Adrenalinempfindlichkeit			Bariumempfindlichkeit		
		Grenzdosis	Wirkung	Vermindert auf	Grenzdosis	Wirkung	Vermindert auf
8a	Ringer	0,20 $^1/_{500\,000\,000}$	+ !		0,20 $^1/_{500\,000\,000}$	+	
	Pyram. 0,3 %.	0,30 $^1/_{10\,000\,000}$	±	$< {}^1/_{75}$	0,20 $^1/_{50\,000\,000}$	+	$^1/_{100}$
9	Ringer	0,30 $^1/_{100\,000\,000}$	+		0,20 $^1/_{50\,000\,000}$	+	
	Pyram. 0,2 %.	0,20 $^1/_{1\,000\,000}$	+	$^1/_{66}$	0,40 $^1/_{50\,000\,000}$	−	$< {}^1/_2$
VIII	Ringer	0,10 $^1/_{20\,000\,000}$	+		0,20 $^1/_{100\,000\,000}$	+	
	Pyram. 0,05 %	0,20 $^1/_{10\,000\,000}$	+	$^1/_4$	0,40 $^1/_{100\,000\,000}$	(+)	ca. $^1/_3$
	Pyram. 0,20 %	0,2 $^1/_{2\,000\,000}$	(+)	$< {}^1/_{20}$	0,35 $^1/_{50\,000\,000}$	+	$^1/_4$
XI	Ringer	0,10 $^1/_{200\,000\,000}$	(+)		0,10 $^1/_{50\,000\,000}$	+	
	Pyram. 0,05 %	0,10 $^1/_{10\,000\,000}$	+				
		0,15 $^1/_{20\,000\,000}$	(+)	$^1/_{15}$	0,1 $^1/_{50\,000\,000}$	(+)	ca. $^1/_2$
	Ringer	0,10 $^1/_{100\,000\,000}$	(+)	$^1/_2$	0,075 $^1/_{50\,000\,000}$	+	0
	Pyram. 0,10 %	0,20 $^1/_{5\,000\,000}$	+ !	$< {}^1/_{40}$	0,10 $^1/_{50\,000\,000}$	(+)	ca. $^1/_3$
	Ringer	0,20 $^1/_{50\,000\,000}$	(+)	$^1/_8$	0,075 $^1/_{50\,000\,000}$	+	0
	Pyram. 0,20 %	0,20 $^1/_{4\,000\,000}$	(+)	$^1/_{100}$	0,75 $^1/_{50\,000\,000}$	+	0
	Ringer	0,20 $^1/_{20\,000\,000}$	(+)	$^1/_{20}$	0,30 $^1/_{50\,000\,000}$	+	0
	Pyram. 0,40 %	0,10 $^1/_{100\,000}$	±	$^1/_{20\,000}$	0,20 $^1/_{50\,000\,000}$	+	$^1/_2$

trationen gemischt wurden; es waren dann in der Lösung die halbe Konzentration beider Stoffe enthalten. In anderen Versuchen wurde die Mischung auch so hergestellt, daß die zu verwendende Lösung von beiden Mitteln 100 % der wirksamen Konzentration enthielt, also eigentlich der doppelten Grenzkonzentration entsprach.

Aus den in Tabelle 4 zusammengestellten Befunden ergibt sich, daß in keinem Falle eine Aufhebung der Wirksamkeit eingetreten ist; nur in 3 von 7 Versuchen war die Wirkung „unteradditiv". Dies ist aber nicht als physiologischer Antagonismus zu verstehen, denn in dem Grenzbereich der Dosierungen nimmt die Wirksamkeit nicht mit steigender Konzentration in linearem Verhältnis zu (vgl. Tabelle 1). Bei Kombination von 100 % Pyramidon und 100 % Coffein wäre also auch nicht die doppelte Abschwächung der Adrenalinempfindlichkeit zu erwarten. In zwei Fällen trat sogar ein überadditiver Effekt auf. Diese Abweichungen von der additiven Wirkung dürften im Bereich der Streuung liegen. Auf keinem Fall ergibt sich aus den Befunden eine antagonistische Beziehung von Pyramidon und Coffein.

Es soll aus den Befunden auch nicht auf eine gleichartige Wirkungsweise der beiden Stoffe, etwa im Sinne der Bürgischen Kombinationsregeln, geschlossen werden, weil ihr Verhalten bei der Kombination vermutlich ein additives ist. Über den Mechanismus der lähmenden Wirkung von Pyramidon und Coffein auf die glatte Muskulatur liegen keine genügenden Kenntnisse vor.

c) Vergleichung der Pyramidonwirkung auf Adrenalin und Bariumchlorid.

Die vorausgegangene Darstellung hat keinen Beweis dafür erbracht, daß das permeabilitätshemmende Pyramidon seine adrenalinantagonistische Wirkung auf Grund seines Charakters als „Zustandsstoff" ausübt. Es liegt also näher, die schon bekannte spasmolytische Wirkung des Pyramidons (Januschke[28]) auf eine direkte Lähmung der glatten Muskulatur oder der adrenalinempfindlichen Rezeptoren zurückzuführen.

Wenn der Angriffspunkt des Pyramidons am glatten Muskel selbst gelegen ist, dann mußte auch die Gefäßwirksamkeit des am Muskel angreifenden Bariumchlorids in Parallele zur Adrenalinwirkung abgeschwächt werden. Für die Ionenwirkung am glatten Muskel ist aber keine Potentialstoffwirkung anzunehmen. Ergebnisse derartiger Versuche mit Adrenalin und Barium sind in der Tabelle 5 zusammengefaßt.

Bei diesen Versuchen ist nur in einem Falle (Nr. 8a) eine Parallele im Verhalten von Adrenalin und Barium bei starker Verminderung der Empfindlichkeit gefunden worden. In allen anderen Versuchen ist trotz starker Abschwächung der Adrenalinwirksamkeit keine entsprechende Aufhebung der Bariumwirkung zu erkennen. Die Ansprechbarkeit auf Barium war vielfach gar nicht oder nur bis auf die Hälfte vermindert.

Diese Versuche zeigen also, daß das Pyramidon vermutlich nicht als Spasmolyticum in der Art wie das Papaverin wirksam wird, sondern eher über eine Ausschaltung der für Adrenalin empfindlichen Elemente. Die Befunde sprechen jedoch nicht im Sinne der oben gestellten Frage gegen einen Potentialstoffcharakter der Adrenalinwirkung.

d) Erörterung der Befunde.

Bei den vorgelegten Versuchen war von der Voraussetzung ausgegangen worden, daß die Adrenalinwirkung auf die Gefäße eine Potentialstoffwirkung ist, die von den Zustandsstoffen in ihrem Ausmaß auf Grund von deren Wirkung auf die Zellpermeabilität quantitativ beeinflußt werden kann.

Für derartige Pharmaka, wie Digitalisglykoside und Harnstoff, konnte schon in einer früheren Arbeit ein derartiges Verhalten nicht nachgewiesen werden. Für Pyramidon und Coffein, welche die Membranpermeabilität beeinflussen können, besteht aber eine stark antagonistische Wirkung zum Adrenalin. Zwischen dem permeabilitätshemmenden Pyramidon und dem angeblich permeabilitätsfördernden Coffein läßt sich jedoch keine gegenseitige Beeinflussung im Sinne einer Aufhebung erkennen. Vielmehr addiert sich ihre adrenalinhemmende Wirkung.

Für das Coffein ist von Gremels[6] freilich auch eine permeabilitätsvermindernde Wirkung angenommen worden, weil sich in gewissen Kon-

[28] Januschke u. Lasch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **114**, 75 (1926).

zentrationen dieses Stoffes Muskelschrumpfungen und Entquellungsreaktionen am Sarkoplasma einstellen. Diese Reaktionen spielen sich wohl nur am Skeletmuskel, nicht aber am glatten Muskel ab. Daraus könnte vielleicht auch auf eine primäre Wirkung auf den Muskelstoffwechsel und sekundäre Entquellungsvorgänge geschlossen werden. Wenn aber Coffein allgemein wie Pyramidon oder Atropin die Permeabilität hemmen sollte, dann wäre zu fordern, daß diese Stoffe gemäß der Potentialtheorie in hohen Konzentrationen die Wirkung von Potentialstoffen hemmen, in niederen aber fördern können, weil sie sie durch eine geringere Diffusionshemmung die Ausbildung eines Potentials begünstigen müßten. Für diese Annahme hat sich aber in den dargestellten Versuchsergebnissen kein Beweis erbringen lassen.

In anschließenden Versuchen wurde noch geprüft, ob der Abschwächung der Adrenalinempfindlichkeit eine Beeinträchtigung der Bariumwirksamkeit parallel geht. Für diesen Stoff wird kein Potentialgiftcharakter angenommen. Ein Parallelgehen der Reaktionsbedingungen, aus welchem also Schlüsse gegen die Potentialstofftheorie hätten gezogen werden können, wurde hier aber nicht beobachtet.

Es mag noch darauf hingewiesen werden, daß Gremels und seine Mitarbeiter ihre Beweise für einen Einfluß der „Zustandsstoffe" gegenüber den „Potentialstoffen" wohl fast ausschließlich an Reaktionen des Azetylcholins am parasympathischen System erbracht haben. Hier wurde jedoch mit einem sympathischen Erregerstoff an einem anderen Erfolgsorgan gearbeitet. Dieser Unterschied dürfte aber nicht zu grundsätzlich anderen Ergebnissen führen, weil die Potentialstofftheorie ja auch nicht den spezifischen Wirkungscharakter, sondern nur den Grad und den Ablauf einer Wirkung kennzeichnen will. Ferner sollen die Zustandsstoffe auch nur die quantitativen Wirkungsbedingungen verändern. In dieser Hinsicht müßte aber auch am sympathischen System für die geprüften Giftarten ein entsprechendes Verhalten zu erwarten sein.

Zusammenfassung.

Am isolierten Froschherzen konnten für das Azetylcholin und am isolierten Kaninchenohr (Gefäßpräparat) für das Adrenalin einige Beobachtungen gemacht werden, die nicht im Sinne der Potentialstofftheorie zu deuten sind. Die Ergebnisse sind in den Erörterungen auf S. 526 und 534 zusammengefaßt.

Aus Statens Seruminstitut, Kopenhagen.

Die Auswertung des direkten Giftwertes des Tetanusgiftes als Beispiel der biomathematischen Ausnutzung der Absterbedauer.

Von

Johs. Ipsen.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. März 1941.)

Das Interesse für die exakte Zahlenbehandlung von biologischen Wirksamkeitsbestimmungen hat im letzten Jahrzehnt bedeutend zugenommen, seitdem die internationale Standardisierung von biologischen Wirkungsstoffen festere Formen angenommen hat.

In der vorliegenden Arbeit sind die Ergebnisse von Messungen des direkten Giftwertes des Tetanusgiftes einer besonderen Behandlung unterworfen worden, welche die bestmögliche Ausnutzung der beobachteten Reaktionen zum Ziel hat. Das gleiche Verfahren ist auch bei einer Reihe von anderen Giften benutzt worden, aber da das Tetanusgift zu denen gehört, die in der Praxis am häufigsten untersucht worden sind, ist es am zweckmäßigsten, die Einzelheiten der Methode gerade an diesem Stoff zu zeigen.

Die Wirksamkeit des Tetanusgiftes kann durch Injektion bei Mäusen, Meerschweinchen oder Kaninchen gemessen werden. Eines oder mehrere Tiere erhalten abnehmende Dosen des Präparats, und man sucht dann eine „tödliche Dosis" (D. l.) zu finden, die man etwas verschieden definieren kann. In dieser Arbeit verstehen wir unter D. l. m. (Dosis letalis media) folgendes:

D. l. m. für Tetanusgift ist diejenige Dosis, die 50 % einer Tiergruppe tötet, nämlich:

bei Mäusen in 120 Stunden (5 Tagen);
bei Meerschweinchen in 120 Stunden (etwa 4 Tagen);
bei Kaninchen in 160 Stunden (etwa 7 Tagen).

Die Definition muß die Angabe enthalten:

1. der Mortalität (Sterblichkeitsprozent), da die Resistenz der Tiere immer individuell verschieden sein wird, und

2. die Zeit der Ablesung, da die Sterblichkeit für die gleiche Dosis auf eine für jede Tierart bezeichnende Weise mit der Zeit zunimmt. Der günstigste Zeitpunkt für die Ablesung ist daher von der benutzten Tierart abhängig.

In den seltensten Fällen wird gerade eine der benutzten Dosen die definierte Reaktion herbeiführen. Man muß daher aus der Reaktion auf mehrere Dosen eine Wirkungskurve konstruieren und auf dieser Kurve die Dosis interpolieren, die gerade die gesuchte Reaktion ergibt.

Die Reaktion der Tiere kann auf zwei verschiedene Weisen registriert werden:

1. die qualitative Entweder-oder-Reaktion, bei der man nur vermerkt, ob das Tier zur Ablesungszeit tot oder lebendig ist;

2. die quantitative, bei der der Eintritt des Todes für jedes Tier sowohl vor als auch nach der durch die Definition gegebenen Ablesungszeit notiert wird.

Die qualitative Registrierung ist die gebräuchlichste. Eine Wirkungskurve kann nur aufgebaut werden, wenn man mehrere Tiere per Dosis anwendet. Den Reaktionsgrad drückt man dann durch den Sterbequotienten oder durch die Mortalität für jede Dosis aus. Trägt man diese Mortalität zum Logarithmus der Dosis auf, erhält man — wie aus zahlreichen Arbeiten der letzten Jahre bekannt ist — eine symmetrische S-förmige Kurve.

Aus dieser Kurve kann man die Dosis berechnen, die 50 % Sterblichkeit ergibt ($D\,50$), und da die Ablesung an dem definierten Zeitpunkt vorgenommen ist, ist $D\,50$ die D. l. m.

Hat man wenig Tiere für jede Dosis, so benutzt man am besten die Flächenmethode, die Kärber bei biologischen Wirksamkeitsbestimmungen eingeführt hat. Eingehende Behandlungen liegen vor: von englischer Seite von Gaddum (1933) und von deutscher Seite von van der Waerden (1940).

Werden viele Tiere für jede Dosis angewendet, ist es vorteilhaft, die Mortalität umzuwandeln in Größen (y), welche die S-förmige Kurve in eine Gerade transformieren (Hazen, Gaddum, Bliss, Prigge und Schäfer), wonach die Interpolation nach den gewöhnlichen arithmetischen Regeln für lineare Reaktionskurven vorgenommen werden kann.

In beiden Fällen jedoch gilt, daß man zur Berechnung der Wirksamkeit nur die Dosen benutzt, die gerade in der Nähe der endgültigen D. l. m. liegen. Jeder, der ein Tetanusgift bei Tieren austitriert hat, weiß, daß nur ein geringer Zwischenraum vorhanden ist zwischen Dosen, die — im gleichen Zeitraum — 100 % Sterblichkeit geben, und Dosen, die nicht töten.

Hat man ein unbekanntes Trockenpräparat, so kann man es in folgender Reihe austitrieren und erhält z. B. folgendes Resultat:

Dosis inj.	4,0	2,0	1,0	0,5	0,25	0,125 γ
Sterbequotient	3/3	3/3	3/3	3/3	0/3	0/3

Hieraus kann man schließen, daß D. l. m. zwischen 0,5 und 0,25 γ liegt. Die gebräuchlichen Methoden verhelfen uns nicht zu einer näheren Schätzung

auf Grund der obigen Daten, und von den 18 Mäusen, die wir injizierten, werden nur die 6, die die Dosen 0,5 und 0,25 erhielten, zur Berechnung benutzt.

Die quantitative Registrierung. Der gleiche Versuch hätte auch quantitativ registriert werden können, indem man die Sterbezeit eines jeden Tieres notiert, und wir könnten dann mit folgenden Daten arbeiten:

Tabelle 1.

Dosis	Anzahl inj. Mäuse	Ablesung nach Stunden 22	24	26	29	42	46	64	72	89	144	Überlebende >144 Std.	Quotient bei 120 Std.
4,0	3		+	+	+								3/3
2,0	3				+	+	+						3/3
1,0	3						+	+	+				3/3
0,5	3							+	+	+			3/3
0,25	3										+	2	0/3
0,125	3											3	0/3

Jedes + gibt an, daß eine Maus an diesem Zeitpunkt tot aufgefunden wurde, während sie noch am vorhergehenden gelebt hatte.

1. Graphische Bestimmung der D. l. m.

Auf Grund dieser Daten kann man eine wirkliche Reaktionskurve konstruieren, in die alle positiv reagierenden (toten) Individuen eingehen. Man trägt die Sterbezeit gegen den Logarithmus der Dosis ab und legt eine Kurve durch die Zeiten, bei welchen etwa 50% der Tiere tot waren (T 50).

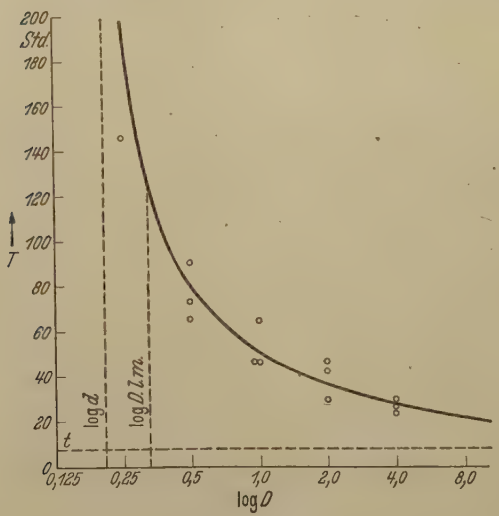


Abb. 1 siehe Tab. 1.

Die Kurve wird so gelegt, daß ebenso viele Punkte über wie unter der Linie sind. Die Abszisse zum Schnittpunkt für 120 Stunden ist dann log D. l. m.

2. Dosis-Zeitkurven und $f(T)$.

Aus Abb. 1 geht hervor, daß die Dosis-Sterbezeitkurve asymptotisch gekrümmt ist. Die eine Asymptote verläuft parallel zur Zeitachse durch eine Abszisse, die wir log d nennen wollen. d ist diejenige Dosis, die 50% der Tiere bei „unendlicher" Beobachtungszeit tötet. Die

andere Asymptote verläuft parallel zur Dosisachse und schneidet die Zeitachse bei t — als Sterbezeit bei unendlich großer Dosis definiert.

Es ist einleuchtend, daß die Asymptote $\log d$ für jedes Präparat verschoben ist, das gemessen wird, und außerdem von der Mittelresistenz der verschiedenen Mäusestämme abhängt; aber wie verhält sich t und die Krümmung der Kurve bei verschiedenen Präparaten gleicher Art, und bei verschiedenen Populationen?

Die Frage der Form und Konstanz der Dosissterbezeitkurve ist für eine Reihe von Toxinen und Tierarten vom Verfasser auf breiter Grundlage in einer größeren Abhandlung (I) behandelt worden. Hierin wurde gezeigt, daß die Beziehung zwischen Dosis und Sterbezeit generell durch die Gleichung

$$(D/d - 1)^{\alpha} (T/t - 1) = K \qquad (1)$$

ausgedrückt werden kann, wobei D die Dosis ist und T die beobachtete Sterbezeit.

Der wichtigste Schluß in Abhandlung (I) ist, daß K, α und t für eine spezielle Toxinart und Tierart (bzw. Blutzellenart) konstant sind.

Dies besagt wiederum, daß die Kurve für ein Gift und eine Tierart konstante Krümmung, Form und eine feste Asymptote, die Zeitasymptote (t) hat. Kennt man die Konstanten einmal, kann man jederzeit die Wirksamkeit eines Toxins bestimmen, indem man nur die Absterbedauer für eine bestimmte Dosis mißt. d drückt nämlich eindeutig die biologische Aktivität aus. Indem man die beobachteten Werte von D und T in die Gleichung (1) einsetzt, kann man also d berechnen, wenn man die Wirkungskurve des Stoffes kennt. Es empfiehlt sich, hierfür Tabellen auszuarbeiten.

Aus (1) erhält man

$$D/d = \left(\frac{K}{T/t - 1}\right)^{1/\alpha} + 1.$$

Wir wissen, daß die Resistenz der Tiere, durch den log der Dosis ausgedrückt, der normalen Verteilungsfunktion folgt; es ist daher zweckmäßiger, die logarithmische Funktion von T auszurechnen, die wir $f(T)$ nennen wollen:

$$f(T) = \log D/d = \log\left[\left(\frac{K}{T/t - 1}\right)^{1/\alpha} + 1\right].$$

Tabelle 2 enthält die Konstanten dieser Gleichung für Tetanusgift und die drei Tierarten.

Tabelle 2. Tetanusgift.

Injektionsart	Tierart	Konstanten		
		t	α	K
Intravenös	Mäuse	8 Std.	0,5	10,3
Subcutan	Meerschwinchen	13,5 „	0,33	5,3
Intravenös	Kaninchen	1/6 „	0,5	715

Diese Konstanten sind bestimmt auf Grund ausgedehnter Versuche mit verschiedenen Tetanusgiftpräparaten*. Was die Methode zur Berechnung der Konstanten anbetrifft, wird hier auf die genannte Abhandlung I hingewiesen.

Am Schlusse dieser Arbeit findet man eine Tabelle über $f(T)$ für die drei Arten von Versuchstieren.

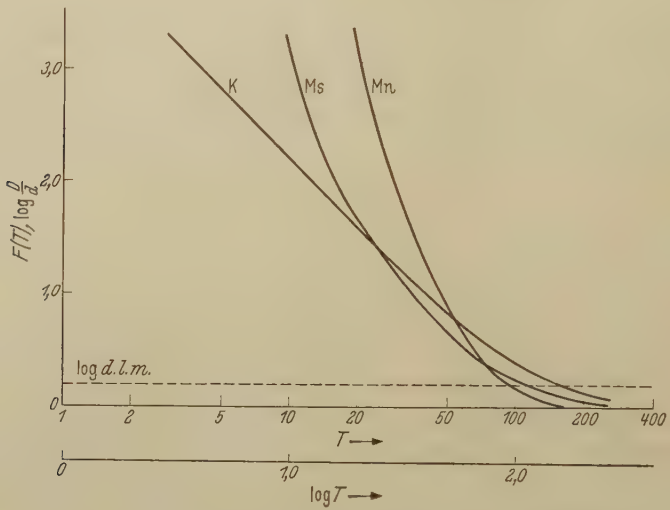


Abb. 2. Logarithmische Dosis. Sterbezeitkurven, K: Kaninchen, MS: Maus, Mn: Meerschwein.

Eine graphische Darstellung von $f(T)$ für die drei Arten ersieht man aus Abb. 2.

3. Anwendung von $f(T)$ zur Berechnung der Wirksamkeit eines Toxins.

Aus (3) geht hervor, daß

$$\log d = \log D - f(T) \qquad (3a)$$

ist. Da $\log d$ ein Maßstab für die Wirksamkeit des Toxins ist, kann man aus der Beobachtung jedes einzelnen Tieres einen Überblick über die Wirksamkeit erhalten. Man beobachtet die Sterbezeit T, findet die entsprechende Größe $f(T)$ in der Tabelle für die betreffende Tierart und subtrahiert diese Größe vom Logarithmus der Dosis, die diesem Tier injiziert worden ist.

Für jedes beobachtete Tier erhöht sich die Genauigkeit der Schätzung von $\log d$. Hier sollen verschiedene Beispiele für die Anwendung von $f(T)$ besprochen werden.

* Die Mäuseversuche sind in ihren Einzelheiten in Abhandlung (I) wiedergegeben. Die Gleichungen für Kaninchen und Meerschweinchen beruhen auf späteren Versuchen.

a) Ein Tier je Dosis, genau beobachtete Sterbezeit.

Kaninchen werden mit Tetanusgift i. v. injiziert in folgenden Dosen, und die Tiere werden in passenden Zwischenräumen beobachtet, wobei der Fehler der Beobachtungen verschwindend gering ist (Tabelle 3).

Tabelle 3. 1 Kaninchen je Dosis.

Dosis (D) mg	Absterbedauer (T) Std.	log D	$f(T)$	log d	
1,0	232	0,00	0,10	— 0,10	Mittelwert log $d = 0{,}110 \pm 0{,}12$
3,2	167	0,50	0,18	0,32	log D. l. m. = 0,30
10,0	46	1,00	0,89	0,11	D. l. m. $= 2{,}0\left(\begin{smallmatrix}+32\% \\ -24\%\end{smallmatrix}\right)$

log d wird gemäß (3a) für jedes Tier berechnet und daraus der Mittelwert errechnet. Zieht man vor, die Wirksamkeit in D. l. m. anzugeben, fügt man zu log d 0,19 hinzu, nämlich $f(T)$ für 160 Stunden (siehe die Definition für D. l. m. für Kaninchen).

Der mittlere Fehler von log d und log D. l. m. wird auf die bei normaler Verteilungsfunktion übliche Weise berechnet.

Der mittlere Fehler ist gleich der Streuung der Resistenz (s), dividiert durch $\sqrt{n}$, wobei n die Anzahl der beobachteten Tiere ist. Die Streuung der Resistenz (siehe weiter unten) ist gleich der Streuung von log d (0,21). Der mittlere Fehler ist demnach: $\frac{0{,}21}{\sqrt{3}} = 0{,}12$. Hätte man den Versuch qualitativ registriert, tot oder lebendig nach 160 Stunden, wäre der Fehler (siehe van der Waerden, a. a. O, S. 396) gewesen: $\sqrt{0{,}564 \times 0{,}5 \times 0{,}21} = 0{,}245$, also genau doppelt so groß.

b) Ein Tier je Dosis, Ablesung mit größeren Zwischenräumen.

Eine genaue Beobachtung der Sterbezeit des einzelnen Tieres mit einem Fehler von z. B. 1 Stunde ist in der Praxis unmöglich; nur wenn die Tiere während der Arbeitszeit sterben, kann man sie häufig genug beobachten. Aber selbst bei nur ein bis zwei täglichen Beobachtungen, z. B. morgens und abends, wobei man praktisch keine Arbeitszeit zusetzt, kann man eine ganz gute Schätzung der Wirksamkeit des Toxins erhalten.

Ein Tetanustoxin von unbekannter Wirksamkeit wurde mit großen Dosenintervallen und mit einer Maus je Dosis geprüft. Die Tiere wurden nur einmal täglich um 9 Uhr beobachtet (die Injektion fand statt 13 Uhr).

Wir haben nicht die genaue Sterbezeit beobachtet, sondern nur ein bestimmtes Intervall. Von der ersten Maus wissen wir nur, daß sie spätestens nach 20 Stunden gestorben ist. Von der zweiten, daß sie zwischen 20 und 44 Stunden gestorben ist, usw.

Tabelle 4.

Dosis (D) mg	1. 20	2. 44	3. 68	4. 92	5. 116	6. Tag 140 Std. (T)	log D	$f(T)$
0,01	+						− 2,0	$\geqq$ 1,68
0,0032		+					− 2,5	1,68 − 0,79
0,001			+				− 3,0	0,79 − 0.46
0,00032					+		− 3,5	0,29 − 0,20
0,0001							− 4,0	$\leqq$ 0,14

Um log d oder log D. l. m. zu berechnen, wendet man am besten eine graphische Methode an*.

In einem Koordinatensystem trägt man $f(T)$ als Ordinate und log D als Abszisse auf, im gleichen Maßstab. Zu jeder Dosis zeichnet man das zu $f(T)$ transformierte Zeitintervall (vgl. Tabelle 4) als einen senkrechten Strich.

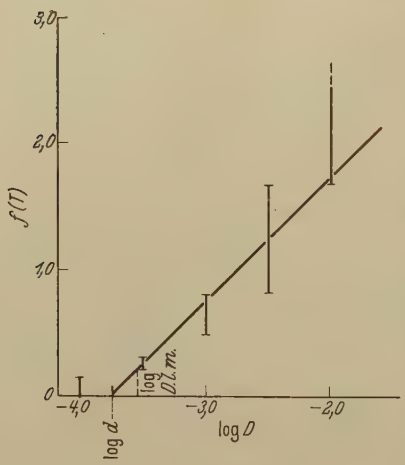


Abb. 3 siehe Tab. 4.

Auf ein durchsichtiges Stück Papier zeichnet man einen Winkel von 45°, den Schenkel legt man über die Abszissenachse und verschiebt ihn, bis alle Linienstücke von dem anderen Schenkel geschnitten werden.

Die Spitze des Winkels ist dann log D und der Schnittpunkt mit 0,19 [$f(T)$ für 120 Stunden] hat die Abszisse log D. l. m.

Wie man aus Abb. 3 ersieht, wird auch die Beobachtung, daß eine Maus überlebt, bei der Berechnung der Wirksamkeit ausgenutzt. Der mittlere Fehler dieser Bestimmung läßt sich nicht unmittelbar berechnen, da die Absterbedauer nicht nur ein Ausdruck für die Resistenz der Tiere ist, sondern zugleich mit dem Fehler behaftet ist, den die grobe Gruppierung der Beobachtungen bewirkt.

Empirisch konnten wir jedoch die Größe des Fehlers abschätzen, indem wir log D. l. m. für 9 Toxine bestimmten, teils durch die in Tabelle 4 angegebene Titration, teils durch eine genauere Titration mit 5 Mäusen je Dosis und 5 Dosen, wobei der mittlere Fehler etwa $\pm$ 10 % war. Die Abweichungen sieht man aus Tabelle 5.

Ein „vorläufiges" Ergebnis ist durch Einzeltierversuch gefunden worden. Das „endgültige" mit Hilfe einer größeren Zahl von Tieren.

* Nach (3a) sind log D und $f(T)$ linear verbunden mit der Richtung -1 (45°), und die Gerade schneidet die Abszissenachse in log d.

Tabelle 5.

Gift Nr.	log D. l. m. vorläufig	log D. l. m. endgültig	Anzahl Mäuse n	Differenz	Differenz $\times \sqrt{n}$	
1	— 2,113	— 2,110	4	0,003	0,006	
2	— 3,555	— 3,496	5	0,049	0,110	
3	— 3,555	— 3,553	5	0,022	0,048	
4	— 3,400	— 3,421	4	— 0,021	0,042	Mittel-
5	— 3,555	— 3,569	5	— 0,014	0,031	wert
6	— 3,347	— 3,646	4	— 0,299	0,598	0,171
7	— 3,555	— 3,578	5	— 0,023	0,051	
8	— 3,375	— 3,601	4	— 0,226	0,452	
9	— 3,423	— 3,514	5	— 0,091	0,204	

n ist die Zahl der Mäuse, die zur vorläufigen Bestimmung gebraucht wurden. Die Differenz ist ein Maßstab für die Größenordnung des Fehlers.

Eine Durchschnittsschätzung des mittleren Fehlers beim Einzeltierversuch erhält man, indem man die numerische Differenz mit $\sqrt{n}$ multipliziert und den Mittelwert aus diesen Größen berechnet.

Diese Zahl 0,171 gibt in groben Zügen den mittleren Fehler bei der Messung mit einer Dosis an; nach Division durch $\sqrt{n}$ erhalten wir die Größenordnung des Fehlers bei Messung mit n Dosen an je einem Tier.

Wiederholte Bestimmung der Streuung der Resistenz unserer Mäuse gegen Tetanusgift ergab Werte, die zwischen 0,10 und 0,25 lagen. Man sieht daraus, daß selbst diese recht grobe Ablesung (einmal täglich in 6 Tagen) keine merkbare Vergrößerung des Meßfehlers über den durch die Resistenzschwankungen hervorgerufenen mit sich führt.

c) Messung mit einer größeren Zahl von Tieren je Dosis.

Die Berechnung von $\log d$ bzw. D. l. m. durch Versuche mit 4—6 oder noch mehr Tieren je Dosis weicht grundsätzlich nicht von dem unter a) angegebenen Verfahren ab: Die Sterbezeit jedes Tieres wird in $f(T)$ verwandelt und von $\log D$ abgezogen, und der Mittelwert aller dieser Größen berechnet. Man muß jedoch unterstreichen, daß dieses Verfahren nur für Dosen gilt, die sämtliche Tiere getötet haben. Gewisse schwächere Dosen töten nur einen Teil der Tiere — selbst bei sehr langer Beobachtungszeit. Würde man ohne weiteres die getöteten Tiere aus diesen Gruppen in den gesamten Mittelwert einrechnen, würde man einen systematischen Fehler begehen.

Wie berechnet man nun den Mittelwert für die Reaktionen in einer solchen partiell reagierenden Gruppe?

Den überlebenden Tieren eine angenommene Sterbezeit zuzuschreiben, wie von einigen Verfassern vorgeschlagen, ist prinzipiell ebenso verkehrt, wie es sein würde, die nicht reagierenden in einer Gruppe ganz außer acht zu lassen.

Das Ziel unserer Berechnung ist es, den Zeitpunkt zu finden, an dem 50% der Tiere einer Gruppe gestorben sind ($T\,50$), oder das dementsprechende Zeitäquivalent $f\,(T\,50)$. Hat man $f\,(T\,50)$ für die Gruppe gefunden, kann man $\log d$ durch Subtraktion von $\log D$ berechnen.

Für eine Gruppe mit 100% Sterblichkeit ist es gleichgültig, ob man das $f\,(T)$ des einzelnen Tieres von $\log D$ abzieht und den Mittelwert aus diesen Größen berechnet, oder ob man erst $f\,(T\,50)$ als Mittelwert der $f\,(T)$ berechnet und dann die Subtraktion ausführt.

In Abhandlung (I) zeigten wir, daß $f\,(T)$ für Tiere, die gleiche Toxindosen erhalten haben, normal um $f\,(T\,50)$ verteilt ist.

Diese normale Verteilung kann man graphisch darstellen, indem man für jeden Zeitpunkt die bis dahin gestorbenen Tiere in Prozent der Gruppenzahl aufschreibt, diesen Prozentsatz in die Größen y (unter der qualitativen Wirkungskurve besprochen) verwandelt, und y zu $f\,(T)$ aufträgt. Hierdurch erhalten wir eine Gerade, die folgende Formel hat:

$$y = b\,[f\,(T) - f\,(T\,50)]. \tag{4}$$

Die Richtung b ist gleich dem reziproken Wert der Streuung der normalen Verteilung $1/b = s$.

Wiederholt man dieses graphische Verfahren für die toten Tiere in den teilweise reagierenden Gruppen, sieht man (wie in Abb. 1 gezeigt) bei einer großen Anzahl Tieren und verschiedenen Toxinen, daß y auch hier eine Gerade mit $f\,(T)$ bildet, aber diese Gerade kann nur bis $f\,(T) = 0$ konstruiert werden, was $T = \infty$ entspricht. Theoretisch kann man dagegen die Position der Linie gut durch ein negatives $f\,(T\,50)$ definieren.

Hieraus geht hervor, daß man $f\,(T\,50)$ für Gruppen mit unvollständiger Sterblichkeit berechnen kann aus der Gleichung:

$$f\,(T\,50) = f\,(T) + y \cdot s. \tag{5}$$

Hierzu muß man s kennen. Ist die Zahl der Reagierenden genügend groß, kann ein $1/s$ als der Richtungskoeffizient der Geraden aus den Koordinaten $[f\,(T), y]$ nach der Methode der kleinsten Quadrate berechnet werden.

Es zeigt sich dabei gleichzeitig, daß s von derselben Größenordnung ist für alle Dosen. Dies besagt, daß man s als Streuung der Gruppen mit voller Sterblichkeit berechnen und es daraufhin für die partiellen Gruppen benutzen kann.

Hierbei muß man jedoch im Auge behalten, daß bei kurzer Absterbedauer eine geringe Beobachtungsverschiebung eine größere Veränderung von $f\,(T)$ ergibt, als bei längerer Absterbedauer, so daß man anscheinend eine größere Streuung für die großen Dosen mit großem $f\,(T)$ erhält.

Bei der Berechnung von y in kleinen Gruppen (3—20 Tiere) ist es am korrektesten, einen Kunstgriff anzuwenden, den Bliss vorgeschlagen hat. Anstatt die Mortalität wie oben erwähnt zu berechnen, berechnet man den Prozentsatz aus der Summe der Zahl der Toten am vorhergehenden Zeitpunkt plus der Hälfte derjenigen, die von da ab bis zu dem in Frage kommenden gestorben sind. Tabelle 6 gibt ein Beispiel.

Tabelle 6.

T (Stunden)	Anzahl Tote in T Stunden	Bliss' Quotient	%	y
36	1	0,5/8	6,25	— 1,53
39	1	1,5/8	18,75	— 0,89
44	1	2,5/8	31,25	— 0,49
47	2	4,0/8	50,00	0,00
65	2	6,0/8	75,00	0,67
80	1	7,5/8	93,75	1,53

Die Auswertung des in Tabelle 1 aufgeführten Versuches geschieht folgendermaßen:

Tabelle 7.

log D	$f(T)$	s	$y \cdot s$	$f(T\,50)$	log d = log D — $f(T\,50)$	n
0,60	1,44 1,34 1,21	0,115	—	1,330	— 0,730	3
0,30	1,21 0,84 0,76	0,240	—	0,937	— 0,637	3
0,00	0,76 0,76 0,50	0,150	—	0,673	— 0,673	3
— 0,30	0,50 0,43 0,31	0,096		0,413	— 0,713	3
— 0,60	0,13	—	÷ **0,97** · 0,16	÷ 0,025	— **0,625**	1
	Mittelwert s = 0,160			Mittelwert log d = — 0,683 D. l. m. = 0,32 γ		

4. Resistenz, gemessen mittels der tödlichen Dosis und der Absterbedauer.

Die Widerstandskraft eines Individuums gegenüber einem bestimmten Gift ist abhängig von so vielen Faktoren, daß selbst eine Gruppe sehr gleichartiger Tiere stets größere oder kleinere Schwankungen in der Resistenz aufweisen wird; und von der Größe dieser Schwankungen hängt die Genauigkeit der qualitativen Messung ab. Wie man diese Variation am besten ausdrückt, hängt von dem Kriterium ab, das der Resistenzmessung zu-

grunde liegt. Wählt man dieses Kriterium so, daß die Verteilung der Werte, die die Resistenz ausdrücken, der Gaußschen Kurve folgt, kann man die Variation eindeutig durch die Streuung dieser Kurve ausdrücken.

Mißt man die Resistenz an dem Logarithmus der Dosis, die gerade notwendig ist, um das Tier in einer bestimmten Zeit zu töten, so bilden diese logarithmischen Dosen eine normale „glockenförmige" Verteilung. Aber bei Giften, deren Wirkungen nicht augenblicklich eintreten, läßt sich eine solche Messung der Resistenz des einzelnen Tieres nicht durchführen. Man muß sich dann damit begnügen, die Gruppen in andere, nicht allzukleine, zu teilen und jeder dieser Gruppen Dosen zu geben von ungefähr $D\,50$ (der Dosis, die im gegebenen Zeitraum 50 % tötet). Den Prozentsatz der in jeder Gruppe getöteten Tiere verwandelt man zu der früher genannten Größe y, die zu $\log D$ aufgetragen, theoretisch eine Gerade ergibt:

$$y = b\,(\log D - \log D\,50). \tag{6}$$

Die Richtung b ist hier gleich dem reziproken Wert der Streuung der von $\log D$ gebildeten normalen Verteilung.

Man ist also außerstande, aus der qualitativen Registrierung heraus die Resistenz des einzelnen Tieres zu bestimmen, aber man kann die Streuung der Resistenz der Gruppe abschätzen.

In der Beobachtung der Absterbedauer hat man ein Mittel zur Bestimmung der Einzelresistenz. Für eine gegebene Dosis werden die am wenigsten resistenten Tiere in kürzerer Zeit sterben, als die mehr widerstandsfähigen Tiere. In der Umschreibung der Absterbedauer zu $f\,(T)$ hat man, wie aus den Gleichungen (4) und (5) hervorgeht, ein Kriterium der Resistenz, das der normalen Verteilungsfunktion entspricht.

In der Abhandlung (I) sind die beiden Ausdrücke für die Streuung der Resistenz eingehend untersucht worden und als von der gleichen Größenordnung gefunden worden, d. h. das b in den Gleichungen (4) und (6) ist identisch und dem reziproken Wert von s gleich.

Soll man daher die Größen der Meßfehler bei beiden Verfahren vergleichen, so kann man sich darauf stützen, daß die Streuung der Resistenz mit äquivalenten Werten gemessen wird.

Van der Waerden hat folgenden Ausdruck für den mittleren Fehler der Flächenmethode (der qualitativen Methode) gegeben.:

$$\mu^2 = 0{,}564\,\frac{\delta \cdot s}{n},$$

wobei δ das logarithmische Dosenintervall ist. Die Formel gilt unter der Voraussetzung, daß man so viel Dosen benutzt hat, daß sowohl 0 % als auch 100 % Sterblichkeit vorkommen. Je kleiner δ, desto größer die Anzahl der anzuwendenden Dosen. Vorausgesetzt sind 3—10 Tiere je Dosis (n).

Der mittlere Fehler (m) bei Benutzung der Sterbezeit ist

$$m^2 = \frac{s^2}{N'}$$

wobei N die Summe der Tiere ist, die beim Versuch sterben. Der mittlere Fehler ist unabhängig vom Dosisintervall und von der Zahl der Tiere je Dosis.

Vergleichen wir die mittleren Fehler μ und m für das vorliegende Beispiel (Tabelle 1 und 7), so erhält man, da $s = 0{,}16$ ist:

$$\mu^2 = 0{,}564 \quad \frac{0{,}3 \cdot 0{,}16}{3} = 0{,}009024; \quad \mu = 0{,}095$$

und

$$m^2 = \frac{0{,}0256}{13} = 0{,}00196; \qquad m = 0{,}044.$$

Die Beobachtung der Absterbedauer hat also in diesem Falle den mittleren Fehler um die Hälfte verringert.

Um mit der gleichen Zahl von Tieren (18) die gleiche Genauigkeit der Messung bei der qualitativen Registrierung zu erreichen, müßte man einen Dosiszwischenraum von 0,075 (20 %) wählen; aber hierdurch wird das gesamte Dosisgebiet sehr verkleinert (die 6 Dosen gehen dann von 1 — 0,32). Da man $D\,50$ mit einer der mittleren Dosen treffen soll, um 0 und 100 % Sterblichkeit mitzuerhalten, muß man voraussetzen, daß man die ungefähre Wirksamkeit des Gilftes von vornherein kennt. Dies braucht man bei einer Messung mit Anwendung der Absterbedauer nicht vorauszusetzen.

Zum Schlusse denken wir uns den Fall, daß wir 100 Tiere zur Verfügung haben zur genauen Bestimmung eines Giftes, dessen Wirksamkeit einigermaßen bekannt ist.

Bei der qualitativen Registrierung folgen wir der Anweisung von van der Waerden (a. a. O., S. 405) und wählen 2 Dosen von der Größe $\log D\,50 + s$ und $\log D\,50 - s$ und injizieren diese je 50 Mäusen, wobei man die maximal erreichbare Genauigkeit erhält:

$$\mu = 1{,}51 \frac{s}{\sqrt{100}} = 0{,}151\, s.$$

Bei Messung der Absterbedauer erhalten wir die besten Bedingungen, indem wir die 100 Tiere auf eine oder mehrere Dosen verteilen, die die Tiere mit Sicherheit töten, z. B. $\overline{\overline{>}}$ log D. l. m. + 2 s. Hierbei erhält man den mittleren Fehler

$$m = \frac{s}{\sqrt{100}} = 0{,}10\, s.$$

Selbst unter diesen optimalen Bedingungen wird die Genauigkeit $1^1/_2$mal so groß, wenn man die Absterbedauer beobachtet, als wenn man sich mit einer Entweder-oder-Reaktion begnügt.

In der Praxis kann man damit rechnen, daß die quantitative Registrierung die doppelte Genauigkeit ergibt; das bedeutet, daß man nur ein Viertel des gewöhnlichen Tierverbrauchs anzuwenden genötigt ist.

Tabellen über die Größe $f(T)$ für Tetanusgift und verschiedene Tierarten.

Mäuse.

T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$
10	3,21	29	1,21	48	0,72	67	0,47	86	0,33	105	0,24	124	0,18	143	0,13
11	2,88	30	1,18	49	0,70	68	0,46	87	0,32	106	0,23	125	0,18	144	0,13
12	2,64	31	1,14	50	0,69	69	0,45	88	0,32	107	0,23	126	0,17	145	0,12
13	2,44	32	1,11	51	0,67	70	0,44	89	0,31	108	0,23	127	0,17	146	0,12
14	2,28	33	1,08	52	0,65	71	0,43	90	0,31	109	0,22	128	0,16	147	0,12
15	2,15	34	1,05	53	0,64	72	0,43	91	0,30	110	0,22	129	0,16	148	0,12
16	2,03	35	1,02	54	0,63	73	0,42	92	0,29	111	0,22	130	0,16	149	0,12
17	1,93	36	0,99	55	0,61	74	0,41	93	0,29	112	0,21	131	0,16	150	0,12
18	1,84	37	0,96	56	0,60	75	0,40	94	0,28	113	0,21	132	0,16	151	0,11
19	1,76	38	0,93	57	0,58	76	0,39	95	0,28	114	0,21	133	0,16	152	0,11
20	1,68	39	0,91	58	0,57	77	0,39	96	0,27	115	0,20	134	0,15	153	0,11
21	1,63	40	0,89	59	0,56	78	0,38	97	0,27	116	0,20	135	0,15	154	0,11
22	1,55	41	0,86	60	0,55	79	0,37	98	0,27	117	0,20	136	0,15	155	0,11
23	1,50	42	0,84	61	0,53	80	0,37	99	0,26	118	0,20	137	0,15	156	0,11
24	1,44	43	0,82	62	0,52	81	0,36	100	0,26	119	0,19	138	0,15	157	0,11
25	1,39	44	0,79	63	0,51	82	0,35	101	0,25	120	0,19	139	0,15	162	0,11
26	1,34	45	0,77	64	0,50	83	0,35	102	0,25	121	0,19	140	0,14		
27	1,30	46	0,76	65	0,49	84	0,34	103	0,24	122	0,18	141	0,14		
28	1,26	47	0,74	66	0,48	85	0,33	104	0,24	123	0,18	142	0,14		

Kaninchen.

T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$
3	3,24	14	1,88	25	1,38	35	1,11	50	0,83	75	0,55	110	0,34	180	0,16
4	2,98	15	1,82	26	1,35	36	1,09	52	0,80	78	0,53	114	0,32	200	0,13
5	2,78	16	1,76	27	1,32	37	1,06	54	0,78	81	0,51	118	0,31	220	0,11
6	2,62	17	1,71	28	1,29	38	1,04	56	0,75	84	0,48	122	0,29	240	0,10
7	2,48	18	1,66	29	1,26	39	1,02	58	0,72	87	0,46	126	0,28	270	0,08
8	2,38	19	1,62	30	1,23	40	1,00	60	0,70	90	0,44	130	0,26	300	0,06
9	2,26	20	1,57	31	1,21	42	0,96	63	0,67	94	0,42	140	0,24	330	0,05
10	2,17	21	1,53	32	1,18	44	0,93	66	0,64	98	0,40	150	0,21	360	0,04
11	2,09	22	1,49	33	1,16	46	0,89	69	0,61	102	0,38	160	0,19	390	0,04
12	2,01	23	1,45	34	1,13	48	0,86	72	0,58	106	0,36	170	0,18	420	0,03
13	1,94	24	1,42												

Meerschweinchen.

T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$	T	$f(T)$
14	6,47	22	2,78	30	1,91	38	1,41	52	0,87	68	0,51	90	0,26	130	0,09
14,5	5,56	23	2,63	31	1,84	39	1,36	54	0,81	70	0,48	95	0,22	140	0,07
15	5,04	24	2,50	32	1,77	40	1,32	56	0,76	72	0,45	100	0,19	150	0,06
16	4,37	25	2,38	33	1,70	42	1,23	58	0,71	74	0,42	105	0,17	160	0,05
17	3,93	26	2,27	34	1,64	44	1,14	60	0,67	76	0,40	110	0,15	170	0,04
18	3,60	27	2,18	35	1,58	46	1,07	62	0,62	79	0,36	115	0,13	180	0,03
19	3,34	28	2,08	36	1,52	48	0,99	64	0,58	82	0,33	120	0,12	200	0,02
20	3,12	29	2,00	37	1,46	50	0,93	66	0,55	85	0,30	125	0,10	250	0,01
21	2,94														

Literatur.

Bliss, C. J.: The calculation of the dose-mortality curve. Ann. App. Biol. **22**, 134 (1935). — Bliss, C. J.: The calculation of the time mortality curve. Ann. App. Biol. 24, 815 (1937). — Gaddum, J. H.: Methods of Biological Assay depending on a Quantal Response. Med. Res. Council. Spec. Rep. Series No. 183 (1933). — Hazen, A.: Transact. Amer. Soc. of Civ. Engineers **77**, 1539 (1914). — Ipsen, Johs.: Contribution to the Theory of Biological Standardisation. Kopenhagen 1941. Abhandlung (I) — Prigge, R., u. W. Schäfer, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 281 (1939). — v. d. Waerden, B. L.: Ebenda **195**, 389 (1940).

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Rostock.
(Direktor: Prof. Dr. Werner Kollath.)

Wachstum und Zellersatz in der Vitaminforschung.

XIV. Mitteilung: Über „Mesotrophie" und verfrühtes Alter als Mangelkrankheit: Fehlen von Wuchsstoffen.

Von

Werner Kollath und Emmy Thierfelder.

Mit 15 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. März 1941.)

In der XI. Mitteilung dieser Studien über „Wachstum und Zellersatz" wurde ein Krankheitsbild bei den Ratten beschrieben, das von allen Vorstellungen abweicht, die wir bisher von Mangelkrankheiten haben. Wir denken uns diese bisher so, daß ein Vitamin fehlt, und daß dann die diesem entsprechende Mangelkrankheit auftritt. Dies andere Krankheitsbild war dadurch gekennzeichnet, daß in der Kost nur ein Vitamin (das B_1) vorhanden war und daß auch der Mineralmangel außerordentlich war; denn lediglich primäres Kaliumphosphat war erforderlich. Während nun ohne diese Zulagen die Versuchstiere in 3—5 Wochen starben, ermöglichten diese beiden Zulagen eine Lebensdauer bis zu $2^1/_4$ Jahren. Die Gewichtskurve war weitgehend horizontal und nur langsam kam es im Laufe der langen Lebensdauer zu einem Gewichtsansatz von 50—60 g Anfangsgewicht auf 150—200 g Endgewicht[1].

Klinisch zeigten die Ratten keine krankhaften Erscheinungen, nur gelegentlich konnte Ergrauen beobachtet werden. Es besteht also wohl eine Beziehung zu Lundes Antigrauhaarfaktor.

Die Sektion und die histologische Untersuchung ergaben aber bei allen Tieren schwere Organveränderungen. Es wurden gefunden bei allen Tieren: Lungenblähung, Nierenschrumpfung und abnorme Verkalkungen. Bei einzelnen Gruppen von Tieren traten außerdem auf: Ikterus, Ödeme, Katarakt, einige Spontansarkome und Cystenbildungen (Ovarien, Gehirn). (Untersuchungen durch Prof. Kalbfleisch, Dresden).

Die Zahnuntersuchungen (durch Prof. Euler, Breslau) ergaben an den hinteren Backenzähnen zunehmende echte Caries und Alterungserscheinungen in der Pulpa[2].

In Stoffwechseluntersuchungen wurde festgestellt: Der Grundumsatz lag an der unteren Grenze der Norm, der respiratorische Quotient betrug im Mittel 0,71—0,75 (normal etwa 0,8). Es bestand „Ödemfähigkeit"

---

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 514 f. (1938), Abb. 1 der XI. Mitteilung. — [2] Euler u. Kollath: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 534 (1938), XII. Mitt.

(verlangsamte Ausscheidung), aber keine „Ödembereitschaft" (Quellfähigkeit). Die gelösten Stoffe im Urin zeigten ebenfalls unternormale Werte, insbesondere war eine schwere Störung des Kalkstoffwechsels vorhanden. Ebenso bestand eine Verschiebung des C- und N-Stoffwechsels. Auf Grund der Ergebnisse wurde das Krankheitsbild als „unternormales Leben" bezeichnet [3].

Gegen diese Bezeichnung, die sich der gewohnten Ausdrucksweise anpaßt, bestehen aber gewisse Bedenken. Denn die Bezeichnung „Norm" ist höchst unsicher in bezug auf Gesundheit. Man pflegt eigentlich damit das Verhalten des jeweiligen Durchschnitts zu bezeichnen, so daß der Begriff „übernormal" schon wieder den Anschein des Krankhaften bekommt. Da sich nun mit Besserung der Umweltbedingungen auch der Durchschnitt verändert, verändert sich auch der „Normbegriff" auf dieser unsicheren Grundlage. Ich habe an anderer Stelle[4] ausgeführt, daß wir uns von dieser ungenauen Ausdrucksweise loslösen müssen. Norm ist Endziel, höchstmögliche Entfaltung der Erbanlagen. Auf dem Wege zu diesem Aufstieg gelangen immer mehr Individuen in das Stadium höherer Ausbildung, werden „normaler". Aus dem verschwommenen Begriff „Norm" schöpft die allzubereite Phantasie der Weltverbesserer gar zu leicht die Vorstellung der sogenannten Höherentwicklung der Menschen ins „Übernormale", obwohl es sich nur um den durchaus natürlichen Vorgang der Erfüllung vorhandener Erbanlagen handelt.

In einer anderen Mitteilung [5] hatte ich das Krankheitsbild als „verfrühtes Alter" bezeichnet. Da die Ratten bei Vollkost etwa 4 Jahre leben, bestand also eine Verkürzung der Lebenszeit auf etwa die Hälfte, so daß der Ausdruck an sich gerechtfertigt ist. Da sich auch ergeben hatte, daß die einmal entstandenen Veränderungen nicht rückbildungsfähig waren, stimmte das auch zur Eigenschaft von Altersveränderungen.

Gegen diese Bezeichnung aber sprach, daß sie zwar den Endzustand richtig kennzeichnet, aber nicht die ätiologische Rolle erkennen läßt. Ich habe im Laufe der weiteren Jahre immer neue Versuche angesetzt, um die Vorbeugungsmaßnahmen erklären zu können. Schließlich fand ich, daß kein bekanntes Vitamin, sondern nur die Zugabe von bisher unbeachteten Wuchsstoffen zur Vorbeugung geeignet ist. Fehlen diese und fehlen alle Vitamine, dann tritt allerdings nur der uncharakteristische Hungertod ein. Ist aber das Vitamin B_1 allein wirksam, dann entsteht jenes oben beschriebene Krankheitsbild auf Grund eines besonderen Stoffwechsels, der zwischen den Abbau und den Aufbau so eingeschaltet ist, daß er das Leben auf einer tieferen Basis ermöglicht. Die Mehrleistung, die die Zellen aufbringen müssen, bezahlen sie mit früherer Abnutzung. Es liegt also eine besondere, bisher unbekannte Stoffwechsellage vor. Für diese habe ich die Bezeichnung **„Mesotrophie"** gewählt.

Da hier sämtliche bekannten Vitamine fehlen bzw. wirkungslos werden, handelt es sich um ein außerordentlich umfassendes Gebiet.

---

[3] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 26 (1939), XIII. Mitt. — [4] Naturgesetze und Lebensgesetze als Grundlagen der Gesundheitslehre. Stuttgart, Hippokratesverlag (z. Z. im Druck). — [5] Klin. Wschr. **1938**, S. 617.

Wahrscheinlich liegt hier jene Summe von Ernährungsschäden vor, von denen wir so oft eine Ursache in Vitaminfehlern annehmen, ohne Hilfe durch Vitamine leisten zu können. Die Krankheitsentstehung weicht von allen bekannten Nährschäden grundsätzlich ab. Ich will in dieser Arbeit die wichtigsten Etappen schildern, die zur Aufstellung dieses Krankheitsbildes führten [6].

Versuche zur Vervollständigung der Diät 18.

Versuch 56a und b.

Da mir daran lag, daß meine Versuche leicht nachgeprüft werden konnten, prüfte ich unter anderem auch das im Handel erhältliche technisch gereinigte Casein als Diätbestandteil. Ferner hielt ich in meinen Versuchen stets die Tiere in luftigen, hängenden Drahtkäfigen (Abb. 1), während üblicherweise in den Vitaminlaboratorien große Emailletöpfe benutzt zu werden pflegen.

Abb. 1. Hängekäfige für Vitaminversuche.

a) Technisches Casein ist gelblich. Es zeigt in der Methylenblaureduktionsprobe eine Entfärbung, ohne Belichtung! Es enthält also zwar einen reduzierenden Stoff, aber kein Vitamin C. Mein Casein, das in kg-Portionen mit Äther gereinigt wird, ist weiß. Es zeigt keine Reduktionsfähigkeit.

Die Versuche mit technischem Casein gelingen nicht. Die Tiere leben zwar etwa 16 Wochen bei B_1-Zugabe, sterben aber lange bevor sich die genannten krankhaften Veränderungen entwickeln.

b) Ebenso zeigte sich auch die Haltung in den tiefen Töpfen schädlich. Es besteht überhaupt eine ungemeine Empfindlichkeit dieser Tiere gegen Witterungseinflüsse und Klima, das sich in der Form des Kleinklimas im tiefen Emailletopf ungünstig auswirkt.

---

[6] Die Versuche wurden mit Unterstützung durch die Deutsche Zahnärztliche Gesellschaft durchgeführt, deren Präsidenten, Herrn Prof. Euler, ich an dieser Stelle meinen aufrichtigsten und herzlichsten Dank ausspreche.

Ebenso habe ich auch Herrn Arthur Darboven in Hamburg meinen Dank auszusprechen. Er unterstützte mich in diesen Versuchen durch Material und fabrikatorische Maßnahmen, zu denen ich in meinem Institut nicht in der Lage bin. Ohne diese Hilfen hätten die Versuche abgebrochen werden müssen.

Ferner habe ich der IG. Farbenindustrie in Elberfeld zu danken, die mir unter anderem die großen Vitaminmengen zur Verfügung stellte.

Die sauberste Haltung und tägliche Verabfolgung von frischem Zellstoff sind notwendig, um dies Ernährungsphänomen hervorzubringen. Alle weiteren Angaben sind der XI. Mitteilung zu entnehmen[7].

Versuche 57.

In Abb. 2 und 3 sind die Wirkungen der Kost 18 und 10 wiedergegeben. Diät 18 enthält nur Kaliumphosphat, 10 das ganze Salzgemisch 185.

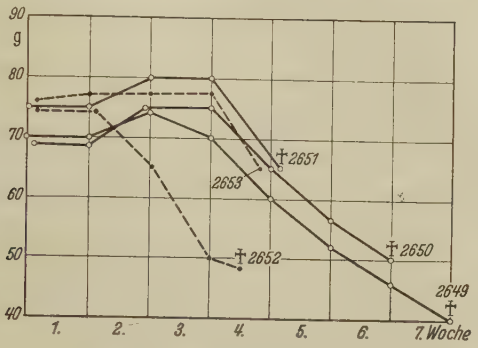


Abb. 2. Diät 18 ohne Vitamin B_1.

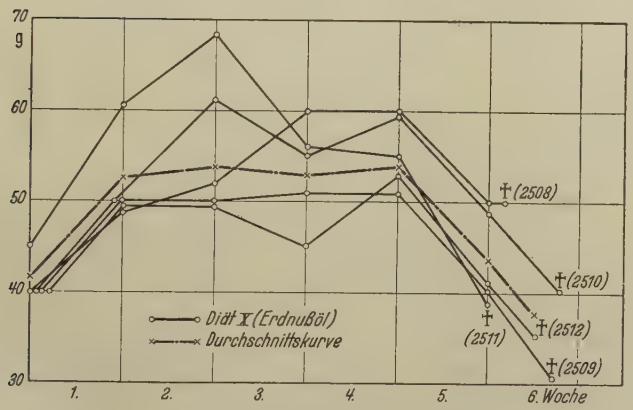


Abb. 3. Diät 10 ohne Vitamin B_1.

Versuch 58a bis d.

In dieser Versuchsreihe wurden die verschiedenen, bisher chemisch rein dargestellten wasserlöslichen Vitamine zugegeben. Dabei wurde stets Lebertran (3 Tropfen täglich) verabfolgt, obwohl längst von uns festgestellt war, daß bei dieser aplastischen Kostform fettlösliche Vitamine keine Wirkung haben (IV. Mitt., Versuch 2, 4 und 5). Um aber naheliegende

[7] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 514 (1938).

Einwände von vornherein zu entkräften, hatte ich beschlossen, diese Gaben beizubehalten [8].

Versuch 58a. Zugabe von Vitamin B_2 (Lactoflavin) in Tagesdosis 5 γ. Als Grunddiät dient hier Diät 10, also die mineralreichere Kost. Es besteht kein Unterschied gegenüber Diät 18!

Abb. 4 zeigt, daß auch bei Anfangsgewichten von 55—105 g keinerlei Erfolg zu sehen ist. Alle Tiere sterben in 4—8 Wochen, die schwereren Tiere später.

Versuch 58b. Zugabe von Vitamin B_6 (Adermin), täglich 10 γ (Abb. 5.)

Nach Kuhn und Wendt [9] soll Adermin „Wachstumswirkung bei Ratten haben". Die Grundkost unterscheidet sich von Diät 10 vor allem durch Anwesenheit von ausgelassener Butter, ferner im Mineralgehalt: sie weist außer den Salzen in meiner Kost noch Kaliumjodid, Mangansulfat, Zinkkarbonat und Kupfersulfat auf. Dann hatte Adermin „wachstumsfördernde" Wirkung.

Es ergibt sich, daß in unseren Versuchen keinerlei Wachstumswirkung eingetreten ist. Alle Tiere sterben wie ohne Zulage in üblicher Zeit.

Versuch 58c. Zugabe von Nikotinsäureamid, täglich 0,1 mg. Aus Abb. 6 ergibt sich, daß auch dies keinerlei Wirkung entfaltet.

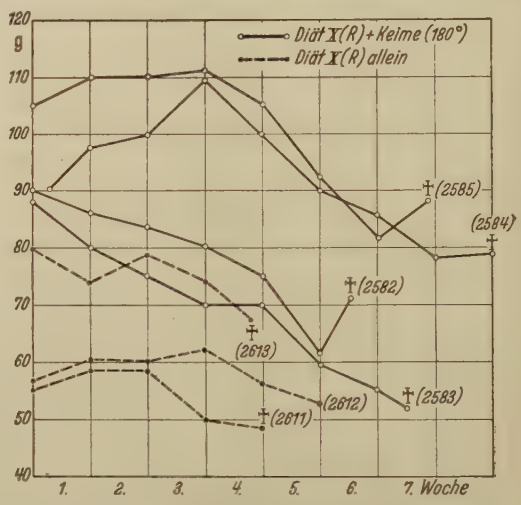


Abb. 4. Zugabe von Vitamin B_2 (Laktoflavin), 5 γ täglich.

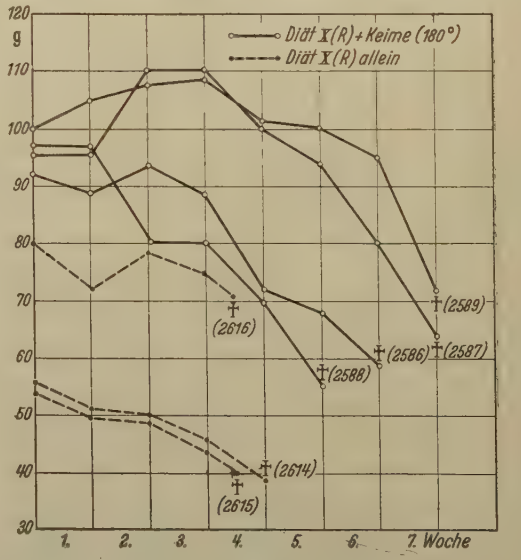


Abb. 5. Zugabe von Vitamin B_6 (Adermin), 10 γ täglich.

[8] Außerdem erhielten die schwereren Tiere noch eine Zulage von Getreidekeimen, die bei 180° geröstet waren (s. unten Versuch 63a). Es erfolgte dadurch eine Mineralanreicherung, deren Fehlen vielleicht gegen die Gültigkeit der Versuche hätte angeführt werden können. — [9] Z. physiol. Chem. **256**, 127 (1938).

Hier möge auf die kritische Bemerkung von Flinker verwiesen werden, wonach Nikotinsäureamid bei der Behandlung der Pellagra in Rumänien wiederholt versagt habe. Es gehören sicher noch andere Stoffe zur vollen Wirkung[10]!

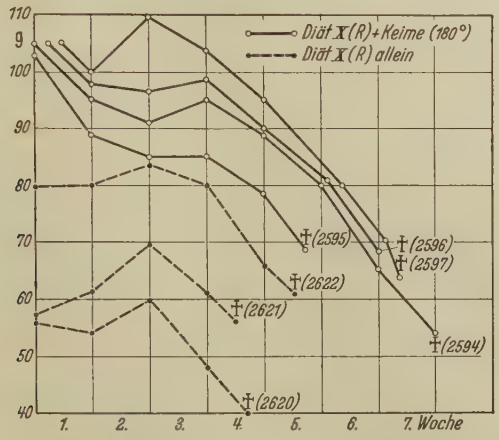


Abb. 6. Zugabe von Nikotinsäureamid, 0,1 mg täglich.

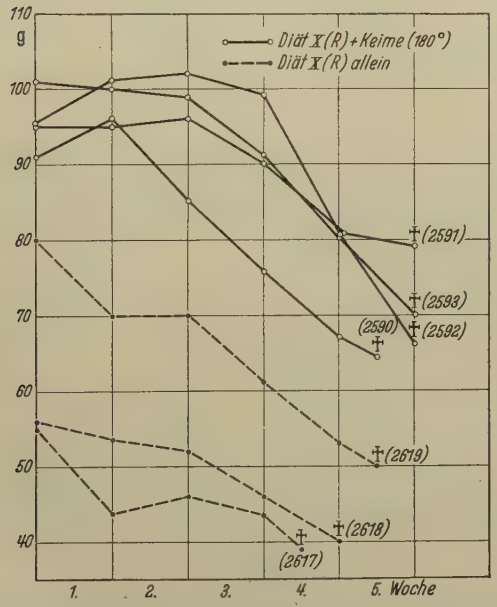


Abb. 7. Zugabe von Vitamin C, 0,1 mg täglich.

Versuch 58d. Zugabe von Vitamin C, täglich 0,1 mg. Abb. 7 zeigt wiederum, daß dieses isoliert gegebene Vitamin wirkungslos ist.

[10] Z. Vit.forsch. **10**, 311 (1940).

Versuch 59a.

Zugabe von Vitamin B_1 (Wiederholung von Versuch 17, 18 (VI. Mitt.) sowie Versuch 48a und b (XI. Mitt.). Täglich 12 γ. Abb. 8 ergibt nun die bereits bekannte Wirkung, daß dies Vitamin B_1 allein zur Wirkung gelangen kann. Es tritt der horizontale Gewichtsverlauf ein. Die Versuche wurden aus wirtschaftlichen Gründen abgebrochen, sobald das Ergebnis bei Diät 10 + Keimzulage (180°) feststand.

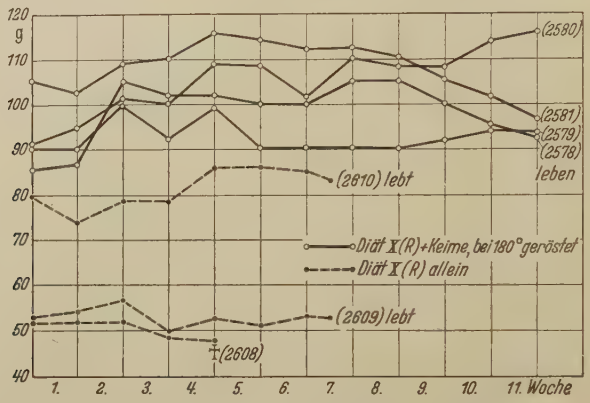


Abb. 8. Zugabe von Vitamin B_1, 12 γ täglich.

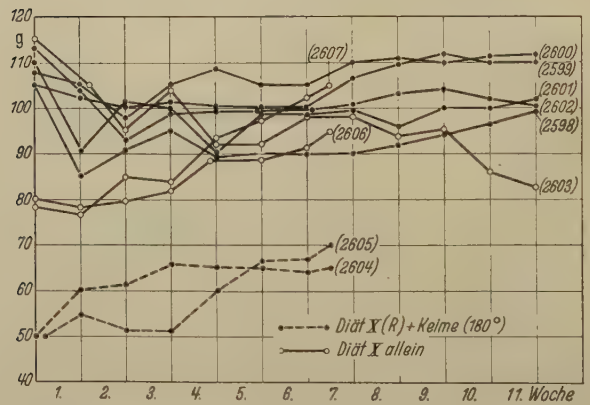


Abb. 9. Zugabe von Vitamin B_1 und dem Gemisch aller bekannten Vitamine.

Versuch 59b.

Zugabe von Vitamin B_1 und einem Gemisch aller vorgenannten wasserlöslichen Vitamine. Außerdem wurden im Lebertran die fettlöslichen Vitamine gegeben. Abb. 9 zeigt, daß lediglich die B_1-Wirkung hervortritt.

Das Ergebnis der Versuche 58 und 59 läßt sich also dahin zusammenfassen: Bei den synthetischen aplastischen Kostformen 10 und 18 bleiben

die bekannten wasser- und fettlöslichen Vitamine unwirksam. Bei 180° geröstete Keime verbessern das Ergebnis nicht.

Man darf daraus wohl schließen, daß zum Wirksamwerden der genannten Vitamine jede Kost noch andere Bedingungen erfüllen muß, als daß Vitamine zugegeben werden. Diese Bedingungen müßten also erforscht werden.

Versuch 60.

Es möge hier ein orientierender Versuch von Poetschke genannt werden, Abb. 10.

Zur Diät 10 wurde täglich 1 mg C (Cantan) gegeben. Von 5 Versuchstieren waren 3 nach 8 Wochen tot. Nun erhielten die beiden überlebenden täglich 12 γ B_1. Es entwickelt sich die horizontale Gewichtskurve.

Bei diesen Tieren erprobten wir verschiedene Vitaminzulagen: Ratte 2424 bekam von der 20. Woche täglich Nikotinsäureamid. Ratte 2426 erhielt in der 20. Woche einmal 100 γ Adermin, das angeblich wachstumsfördernd wirken soll, später bekam sie außerdem noch täglich 40 γ Lactoflavin. Alles bleibt wirkungslos, wie die Kurve zeigt.

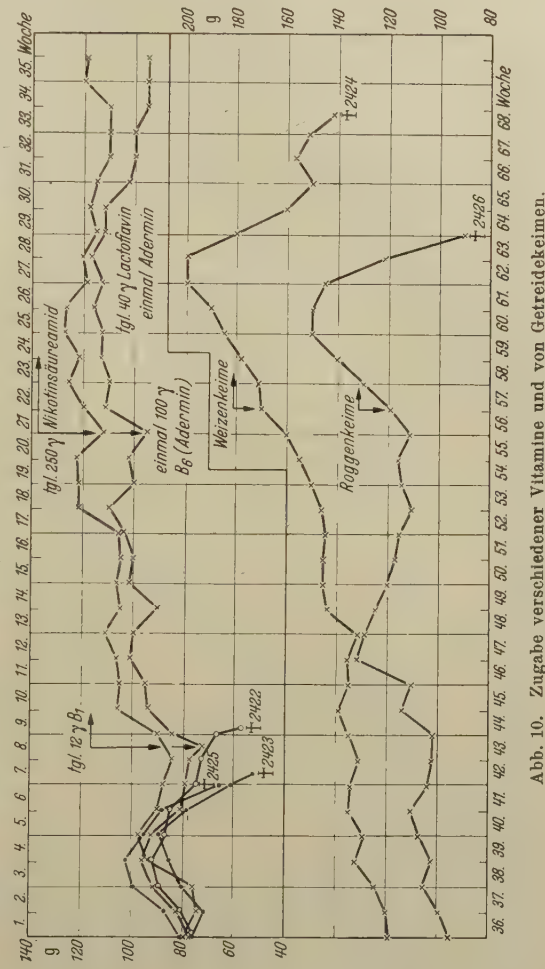


Abb. 10. Zugabe verschiedener Vitamine und von Getreidekeimen. Anfangs Diät 10, dann Zulage von B_1.

Schließlich gaben wir in der 56. Woche frische Getreidekeime. Darauf erfolgt bei beiden Tieren ein deutlicher Gewichtsanstieg, aber nach 5—6 Wochen erfolgt steiler Gewichtssturz und Tod. Eine Heilung war also nicht erfolgt.

Das entspricht dem Versagen der Vollkost in Versuch 49 (XI. Mitt.), wo die Tiere ebenfalls nach vorübergehendem Anstieg einen Gewichtsabfall zeigen. Sie wurden damals getötet und der Spontantod konnte

nicht abgewartet werden. Im Rippenknorpel ergab sich kein Wachstumszeichen! (s. dort, Abb. 3). Dieser Versuch zeigte also wieder, daß Unheilbares entstanden war.

Vorläufiges Ergebnis.

Die isolierte B_1-Wirkung ist einzigartig. Sie läuft ab, ohne daß die bekannten Vitamine in der üblichen Tagesdosis einen Einfluß haben. Diese Stoffwechselwirkung bezeichne ich als Mesotrophie (s. oben).

Die Suche nach Wuchsstoffen.

Nunmehr schien es notwendig, die Suche nach Wuchsstoffen aufzunehmen. Denn es wurde immer deutlicher, daß diese fehlen mußten.

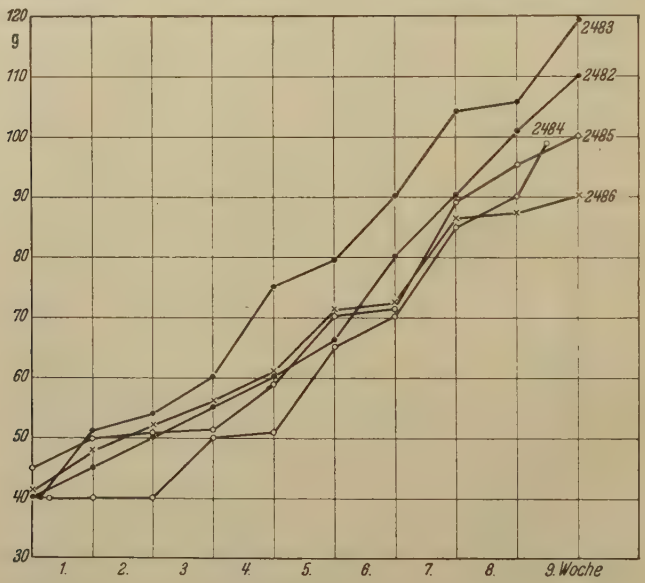


Abb. 11 Zugabe von 2 g Hafer täglich.

Versuche mit Polynutrit und Polyvitamin.

Versuch 61.

Polynutrit wirkt offensichtlich wie B_1, Polyvitamin aber zeigte zum erstenmal eine deutliche Gewichtszunahme, wenn sie auch sehr langsam erfolgt. Von Abbildung wird abgesehen.

Zulage von Körnern.

Versuch 62 a.

Hier wurden täglich 2 g Haferkörner zugegeben. Es tritt ein starker Gewichtsanstieg ein (Abb. 11)., der annähernd mit der Wirkung von Hefezu-

lage übereinstimmt[11], wo über die Wachstumswirkung von frischer Brauereihefe und von autoklavierter Hefe berichtet wurde.

Zugabe von keimfreier Kleie.

Versuch 62b.

Abb. 10 und 12 sind aus Versuchsreihen meines Assistenten Gerd Poetschke entnommen, über die dieser später ausführlich berichten wird.

Um die Frage zu prüfen, ob die Kleie in jeder Form, z. B. auch die keimfreie, jene große Bedeutung besitzt, die ihr oft zugeschrieben wird, wurden viele ergebnislose Versuche durchgeführt.

In Abb. 12 seien aber einige Kurven zusammengestellt, die weiterführen. Zunächst sehen wir, daß 2 Tiere trotz Zulage von B_1 und C frühzeitig sterben. Beide zeigten stärksten Krätzebefall.

2 Tiere bekamen von der 12. Woche ab entbitterte Weizenkeime[12]. Sie zeigen darauf ein deutliches, wenn auch noch langsames Wachstum und sterben unter starkem Gewichtsabfall in der 45. Woche, ohne daß sich ein Grund auffinden ließe. Ratte 2445 hatte seit der 35. Woche Polynutrit erhalten. Auch dies half also nichts.

Versuch 62c.

Hier gaben wir von Anfang an die entbitterten Weizenkeime. Es tritt starker Gewichtszuwachs ein. Die Tiere wurden nach 10 Wochen getötet. Sie waren völlig normal.

Bei der Entbitterung behalten Weizenkeime demnach noch die in ihnen enthaltenen Wuchsstoffe; ein gewisser Dauerschaden scheint aber doch vorzuliegen.

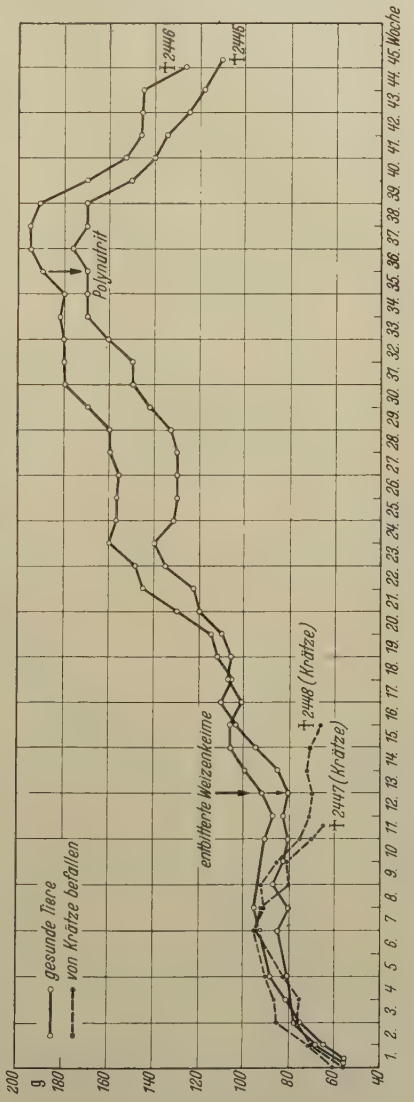


Abb. 12. Zugabe von entbitterten Weizenkeimen, zum Schluß auch Polynutrit.

[11] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **142**, 92/93 (1929), (Abb. 1, Kurve III). —
[12] Dr. Grandels Keimdiät, Pfladermühle, Augsburg.

Diese Versuche werden wichtig sein für die chemische Isolierung der Wuchsstoffe.

Versuch 62 d.

Hier wurden frische Weizenkeime in Mengen von täglich $^1/_2$ und 1 g zugegeben. Man sieht aus Abb. 13, daß die größere Menge deutlich kräftiger

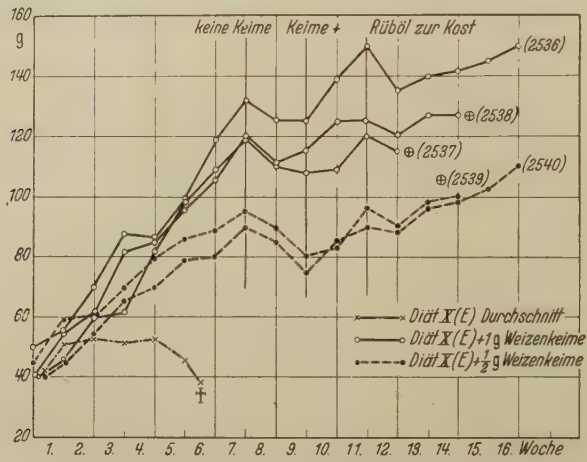


Abb. 13. Zugabe von 1 g und $^1/_2$ g Weizenkeimen, s. Text.

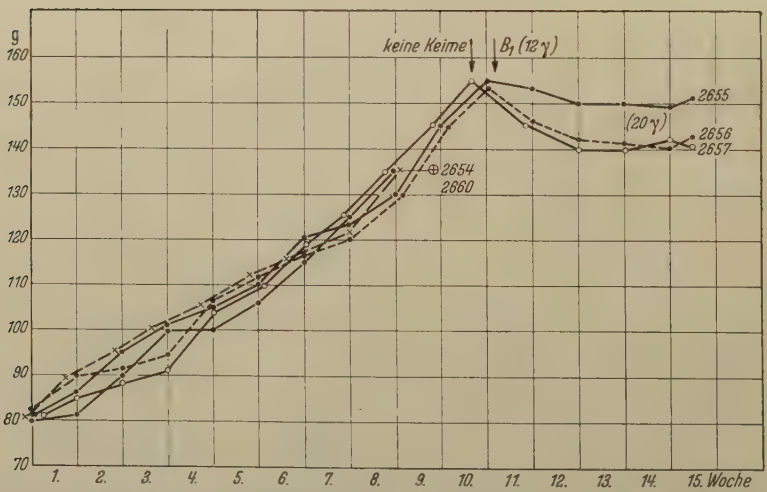


Abb. 14. Zugabe von 1 g Roggenkeimen, nach 10 Wochen absetzen und Ersatz durch Vitamin B_1: Übergang zur Mesotrophie.

wirkt und daß der Gewichtsanstieg noch steiler ist, als bei den entbitterten Keimen (vgl. Abb. 12). Nach 7 Wochen werden die Keime abgesetzt. Es erfolgt Gewichtsabnahme, nach 2 Wochen erfolgt wieder Zugabe und darauf Zunahme.

Nach 11 Wochen mußte die Kost geändert werden. Infolge des Krieges war das Erdnußöl nicht mehr erhältlich. Ich mußte zur Verwendung von Rüböl übergehen. Darauf reagierten alle Tiere einige Wochen mit starkem Gewichtsabfall. Erst später setzte wieder Anstieg ein.

Versuch 62e.

Nunmehr wurde 1 g Roggenkeime zugegeben, die sich in vierfachen Kontrollversuchen genau wie Weizenkeime ausgewirkt hatten. Als die Keime nach 10 Wochen fortgelassen wurden, wurde nunmehr die Zugabe von Vitamin B_1 durchgeführt. Nach kurzem Gewichtsabfall tritt der Übergang zur horizontalen Gewichtskurve ein, also zur mesotrophischen Form. Die Tiere leben noch. (Nachtrag bei der Korrektur nach 25 Wochen!)

Mit diesem Teilversuch 62e ist der Beweis geschlossen: Zugabe von wuchsstoffhaltigen Keimen verhindert nicht nur den Gewichtsabfall und Tod, sondern auch die mesotrophische Lage. Fortlassen der Keime ohne B_1 führt zum schnellen Tod, Zugabe von B_1 aber zur mesotrophischen Lebensform.

Zerstörbarkeit der Wuchsstoffe.

Bevor nun die Bedeutung und der Umfang des Begriffes Mesotrophie besprochen wird, seien noch Versuche erwähnt, in denen die Zerstörung der Wuchsstoffe versucht wurde.

Versuch 63a.

Die trockenen Roggen- bzw. Weizenkeime wurden bei folgenden Temperaturen erhitzt:

bei 100°	1 Std.
„ 140°	1 „
„ 160°	½ „
„ 180°	¼ „
„ 200°	¼ „

Es ergab sich, daß die Wuchsstoffe bei Temperaturen über 160° zerstört werden (Abb. 15).

Damit rücken diese Wuchsstoffe in den Bereich der bei Meerschweinchen wirksamen Wuchsstoffe, die nach meinen früheren Versuchen bei über 170° zerstört werden[13].

Versuch 63b.

Versuch, die Wuchsstoffe durch Röntgenstrahlen zu zerstören. Die Keime wurden mit einer Dosis von 5500 r harter Strahlen behandelt. Die Bestrahlung führte liebenswürdigerweise Herr Dr. Reichel von der hiesigen Medizinischen Klinik durch.

Die Wuchsstoffe wurden durch Röntgenstrahlung dieser Dosierung nicht zerstört.

[13] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 188 u. 197 (1938), X. Mitt.

Verbreitung der Wuchsstoffe.

Nach meinen bisherigen Versuchen sind die Wuchsstoffe für Tiere im Pflanzenreich weit verbreitet. Ich konnte sie einst aus Erbsen, Kastanien, Tomaten, Hefen nachweisen[14]. Wir finden sie nun also in größten Mengen in Keimen. In rohen Kartoffeln konnte ich sie einst auch nachweisen. (Ratte 1349, 1326 und 1322.) Dazu wurde rohes Fleisch zugegeben. Es trat intensives Wachstum ein (nicht veröffentlicht).

Die Wuchsstoffe fehlen hingegen in folgenden Stoffen: Fleisch, roh und gekocht, ferner in Feinmehl, Zucker, Fett. Butter habe ich noch nicht geprüft. Vollmilch allein führt zu keiner Gewichtszunahme, aber in Verbindung mit Weißbrot.

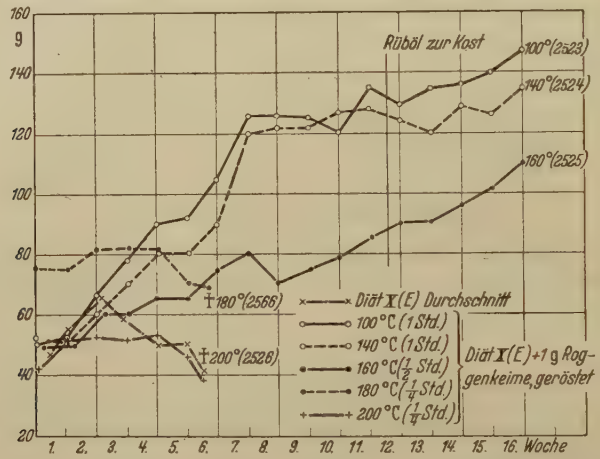


Abb. 15. Hitzezerstörung der Wuchsstoffe.

Chemie der Wuchsstoffe.

Ich nehme an, daß es sich bei dieser Wirkung um zwei Faktoren handeln wird. Es ist möglich, daß einer dieser Faktoren die von Williams isolierte „Pantothensäure" ist, die „überall vorkommende Säure". Lunde, Kringstadt und Jansen haben kürzlich in den Naturwissenschaften (1941, S. 62) über Versuche berichtet, in denen sich der „Antigrauhaarfaktor" durch Pantothensäure ersetzen ließ. Wir haben, wie erwähnt, gelegentlich ebenfalls Graufärbung der Haare beobachtet, doch war es nicht möglich, bei unserer Kost eine erneute Schwarzfärbung hervorzurufen. Das spricht ebenfalls dafür, daß die Lunde-Diät noch einen zweiten, unbeachteten Wachstumsfaktor enthält*).

[14] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **142**, 86 (1929); ferner Wien. klin. Wschr. **1931**, Nr. 9 u. 10.

* Nachtrag bei der Korrektur: Inzwischen abgeschlossene Versuche haben ergeben, daß die Panthotensäure keine Wuchsstoffwirkung herbeiführt.

Jedenfalls geht aus unseren Versuchen hervor: Die einzige Kost, die zur Isolierung der Wuchsstoffe geeignet ist, weil ihr alle zufälligen Beimischungen fehlen, ist die Diät 18 mit B_1-Zugabe. Man muß scharf zwischen „wachstumsbedingend" und „wachstumsfördernd" unterscheiden, wenn man dies wichtige Gebiet klären will.

Das Rätsel der Wirkung.

Ich habe bereits in den früheren Mitteilungen darauf verwiesen, daß das B_1 nach unserem heutigen Wissen als Co-Ferment in den Abbau der Brenztraubensäure eingreift. Da diese nun aber eine Schlüsselstellung im Kohlenhydrat-, Eiweiß- und Fettabbau einnimmt, erhält das B_1 eine gleiche Schlüsselstellung. Das dürfte der Grund sein, weshalb es allein in der Lage ist, das Leben zu erhalten. Die anderen Vitamine haben nicht die Möglichkeit, den Gesamtstoffwechsel zu beeinflussen, sondern greifen nur in Teile des Abbau- oder Aufbauvorganges ein. Ich habe früher gezeigt, wie sich diese Wirkungen zu einer Ordnung der Mangelkrankheiten auf Grund der Stoffwechselfähigkeiten verwenden lassen [15].

Es besteht aber ein grundsätzlicher Unterschied der B_1-Wirkung in Tier und Pflanze: während im Tier das B_1 Ursache der Überalterung wird und Zusatz von Wuchsstoffen notwendig ist, wirkt das B_1 in Pflanzen wie ein Wuchsstoff, und ohne B_1 tritt bei einer sonst ausreichenden Nährlösung „Überalterung" ein. Es ist demnach damit zu rechnen, daß sich auch im pflanzlichen Stoffwechsel eine besondere Form der Mesotrophie finden muß: ohne Zellteilung eine Erhaltung des Lebens. (Wir gelangen hier zu dem Begriff der „ruhenden Bakterien".)

Die Mesotrophie und ihr Wesen.

Ich verweise hier zunächst auf meine Versuche in der VIII. und IX. Mitteilung, wo ich zeigen konnte, daß Zugabe von Getreidekörnern bei einer einseitigen Fleisch-Talg-Diät zu schweren „Rachitis-Bildern" führen konnte [16]. Sie führen also nicht unter allen Umständen zu Gesundheit.

Diese Kost konnte durch Mineralzugaben (Salzgemisch 185 McCollum) nicht vervollständigt werden. Ohne Körner trat Atrophie ein (Versuch 40).

Wohl aber fand sich in diesen Versuchen, daß die Ratten bei einseitiger Fleisch-Talgkost eine ebenso horizontale Gewichtskurve bekamen. Da hier Wuchsstoffe fehlen, B_1 aber anwesend war, haben wir demnach die mesotrophische Grundbedingung erfüllt (VIII. Mitt., Abb. 6: Versuch 38 und IX. Mitt., Versuch 46).

Wuchsstoffe vermögen also bei bestimmtem Mineralmangel Krankheiten des paraplastischen Typs hervortreten zu lassen; ohne sie aber und ohne B_1 entstehen die Mangelkrankheiten des aplastischen Typus [17].

---

[15] I. Mitt. 1932; s. auch Dtsch. med. Wschr. **1941**, z. Z. im Druck. — [16] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **170**, 636 u. 666 (1933). — [17] Ebenda **167**, 469 (1932), I. Mitt.

Die Mesotrophie steht also zwischen diesen beiden Erkrankungsgruppen, sie ordnet sich zwischen den reinen Abbau und den Gesamtstoffwechsel, der aus Aufbau und Abbau besteht. Und deshalb, weil sie zwischen der bisher allein bekannten Stoffwechselmöglichkeit steht, habe ich ihr den Namen „Mesotrophie" gegeben.

Während es früher also nicht möglich war, ein einheitliches ätiologisches Krankheitsbild aufzustellen, besteht heute die Möglichkeit dazu: Die Mesotrophie ist die umfassendste Mangelkrankheit.

„Das Fehlen der Wuchsstoffe ist die unspezifische Voraussetzung dafür, daß die Mesotrophie auftreten kann; ob sie auftritt, hängt von dem Wirksamwerden des isolierten B_1 ab."

Das ist eine spezielle Fassung meiner allgemeinen Definition der Mangelkrankheiten, wie ich sie in meinen „Grundlagen der Hygiene" gegeben habe (S. 112).

Ein zweites Kennzeichen der mesotrophischen Stoffwechsellage ist die Unwirksamkeit der fett- und wasserlöslichen Vitamine. Diese können fehlen oder anwesend sein, das bedeutet für den Verlauf nichts. Dieser Befund ist praktisch ungemein wichtig. Denn er erklärt, weshalb Vitamingaben so oft versagen, obwohl wir nach allen anderen Tatsachen überzeugt sein müssen, einen Mangelschaden vor uns zu haben. Die mesotrophische Lage scheint also auch beim Menschen vorzukommen.

Es ist nun zu überlegen, wie weit der Begriff der Mesotrophie auf den Menschen übertragen werden könnte. Wir werden hier nach besonderen klinisch meßbaren Veränderungen suchen müssen. Einige Hinweise möchte ich geben:

1. Wir beobachteten oft, daß die Thymusdrüse auffallend lange nachweisbar war.

Hier ist an die Arbeiten von Bomskov zu denken, der dem Thymus eine Wachstumswirkung durch Hormonproduktion zuschreibt. Diese soll unter Einfluß der Hypophyse stehen. Wir konnten zeigen, daß die eosinophilen Granula des Hypophysenvorderlappens bei Mesotrophie fast völlig verschwunden sind.

2. Orientierende Untersuchungen der Darmbakterien ergaben, daß die mesotrophischen Ratten eine auffallend starke Verminderung der anaeroben Flora haben. (Kulturen im Anaerostaten!) (noch nicht veröffentlicht.)

Diese Beobachtung weist darauf hin, daß wir die Frage des Dysbakterie (Nissle, Baumgärtel) unter diesem neuen Gesichtspunkt des Nahrungseinflusses zu prüfen haben. Denn es liegen Beobachtungen vor, wonach z. B. die Pantothensäure Bakterien gegenüber als Wuchsstoff fungieren soll [18].

3. Wir haben bei mesotrophischen Ratten Immunisierungsversuche gemacht. Agglutinine konnten nachgewiesen werden. Vibriolysine aber nicht. Bei normalen Ratten aber gelang deren Erzeugung [19].

[18] Mueller u. Klotz: J. of the Amer. Chem. Soc. **60**, 3087 (1938). — [19] Med. Welt **1934**, Nr. 15 und unveröffentlichte Versuche.

4. Das Versagen des Vitamins C (Versuch 58d) führt dazu, auch diese Beziehung zu erörtern. Mir scheint, daß der bisher nicht zur Ruhe gekommene Streit um den täglichen Vitamin C-Bedarf durch die Beachtung des Mesotrophiebegriffes geklärt werden kann.

Versuch 64.

In einigen Versuchen wurde auch der C-Gehalt des Rattenurins bestimmt. Es ergab sich: 4 Kontrollratten schieden in 13 Stunden 34 ccm Urin aus. 30 ccm zeigten eine Gesamtreduktion von 0,56 mg, 10,0 ccm also 0,18 mg%. 4 Ratten im mesotrophischen Zustand mit 1 Jahr Versuchsdauer schieden in $13^1/_2$ Stunden 14 ccm Urin aus. In 10 ccm ergab sich 0,126 mg%, in einer zweiten Bestimmung 0,0947. In einem weiteren Versuch von 11 Monate langer Dauer ergab sich in 7,5 ccm Urin 0,085 mg reduzierender Substanz, also nach den herrschenden Ansichten Vitamin C, was nicht bewiesen ist.

In besonderen Versuchen wurde das Diät-Casein bestimmt. Es ließ sich kein Vitamin C nachweisen! (Die Bestimmungen wurden entgegenkommenderweise in dem Laboratorium des Physiologischen Instituts von Herrn Prof. Wachholder ausgeführt.)

Es ist demnach nicht daran zu zweifeln, daß lange Ausscheidung von reduzierenden Stoffen mit C-Charakter möglich ist, auch wenn kein C genommen wird.

Damit gelangen wir zu dem noch nicht geklärten Streit über den Vitamin C-Bedarf des Menschen.

Rietschel vertritt seit längerer Zeit die Ansicht, daß der von seiten vieler Kliniker und Theoretiker geforderte Vitamin C-Gehalt der täglichen menschlichen Nahrung in Höhe von 50 mg zu hoch sei. Er begründete das damit, daß zweifellos Fälle vorliegen, in denen Menschen monatelang von Fleisch und Fett gelebt haben, ohne Skorbut zu bekommen. In seiner Arbeit mit Schick[20] führt er überzeugende Befunde von Polarforschern an. Ferner hat er, mit Mensching und Schick, deren Selbstversuche mit C-freier, bis C-ärmster Kost veröffentlicht, in denen Mensching 100, Schick 160 Tage Vitamin C-frei lebten, ohne Skorbutsymptome zu bekommen. Die Kost bestand aus: geräuchertem Schinken, gesalzenem Speck, Eiern, Käse, Milch, überbratenem und ausgekochtem Fleisch; an Kohlenhydraten wurden gegeben Brötchen, Nudeln, Makkaroni, Mehlspeisen. Ferner abends verschiedene Weißbrotarten, eventuell Vollkornbrot. Daneben wurde Butter als Aufstrich gegeben, gelegentlich Fische. Tierische Fette und Olivenöl wurden zur Zubereitung verwendet. Alles, was voraussichtlich C enthielt, wurde durch Kochen in Soda C-frei gemacht.

In 3—5 Monate bekamen diese beiden Versuchspersonen, keinen Skorbut. Der C-Gehalt im Blute sank vom 1. Tag mit 0,72 mg% bis zum 100. Tag auf 0,06—0,0 mg%.

Widenbauer hat entsprechende Versuche bei zwei idiotischen Säuglingen gemacht, mit dem gleichen Resultat. Rietschel zitiert aus Widenbauers Brief an ihn die Stelle: „Ich muß gestehen, daß Ihre Ansicht beim Lesen Ihrer Arbeiten besticht — andererseits kann ich aber wiederum kaum glauben, daß all die mühevoll

[20] Klin. Wschr. **1939**, S. 1285.

an allen Orten der Welt seit einigen Jahren betriebene Arbeit uns zu trügerischen Schlüssen verführt hat. Es muß sich doch eine Einigung finden lassen" —. Das kann durch den Begriff der Mesotrophie erfolgen.

In der VIII. Mitteilung meiner Arbeitenreihe über Wachstum und Zellersatz in der Vitaminforschung finden sich die schon erwähnten Rattenversuche, die geeignet sind, diese Befunde am Menschen zu unterstützen: In Versuchen 27 und 38 sind Gewichtskurven abgebildet, in denen Ratten bei ausschließlicher Fleisch-Talg-Diät über 25 Wochen lebten. Dann wurden sie aus Versuchsgründen mit Gas getötet. Die histologische Untersuchung wurde bei diesen Tieren durchgeführt. Und aus den Protokollen kann man nachträglich entnehmen, daß sich bei dieser C-freien Kost kein Skorbut entwickelte!

Diese Tiere wurden durch Vitamingaben in der Lebensdauer erheblich geschädigt. Ich verweise auf die Arbeit in der Klin. Wschr. 1931, S. 1841. Ich habe die Gleichartigkeit dieser Gewichtskurven mit dem Verlauf der Diätwirkung bei „unternormalem Leben" (Diät 18 und B_1) auch erst jetzt bemerkt, da ich ebenso im Bann der bisherigen Ernährungslehre stand. Nunmehr aber muß ich sagen:

Sowohl bei der einseitigen B_1-Wirkung und Fehlen der Wuchsstoffe bei synthetischen Diäten, wie bei reiner Fleisch-Talg-Kost, wie auch wohl bei Mehlkost können diese mesotrophischen Lebensbedingungen entstehen. Dabei ist nicht sowohl maßgebend, was gegeben wird, als auch, was nicht gegeben wird. Sehen wir daraufhin die von Rietschel angegebene Kost durch, dann sehen wir, daß nicht nur das Vitamin C fehlt, sondern daß auch nur minimale Wuchsstoffmengen vorhanden gewesen sein können: Vielleicht in dem morgens ab und zu gegebenen Honig, in Eiern und im Vollkornbrot. Diese traten aber in der Gesamtkost weit zurück. Statt dessen ist der B_1-Gehalt sicher ziemlich hoch gewesen.

Es dürften demnach durchaus die Bedingungen der mesotrophischen Ernährung bei Rietschels Versuchen, aber auch bei reiner Fleisch-Talg-Kost gegeben sein. Damit wäre aber auch der Streit um die notwendige C-Menge geklärt, allerdings auf eine unerwartete Weise. Wie so oft, haben beide Parteien in beschränktem Umfange recht:

Rietschel hat recht, daß es eine Ernährungsform gibt, bei der praktisch kein Vitamin C gebraucht wird. Er könnte auch sagen, daß die anderen bekannten Vitamine fehlen können. Allerdings: diese Kost führt innerhalb der Versuchsmonate 3—5 bzw. 9 Monate bei Polarforschern noch nicht zu Schäden, insbesondere nicht beim Erwachsenen. 1 Rattenjahr = 26 Menschenjahre. Erst von dieser Zeit ab entwickeln sich die Organveränderungen. Und demnach dürften diese Schäden beim Menschen erst nach Jahrzehnten eintreten, wenn diese Lebensform beibehalten wird, wenn also die Menschen die übliche Zivilisationskost ohne ausreichende Wuchsstoffe beibehalten. Dann treten als „Alterskrankheiten" bezeichnete Schäden des chronischen Mangelzustandes auf, die das Kennzeichen des Unheilbaren haben.

Die Vorbeugung erfolgt hier nun nicht mit dem so beliebten Vitamin C, sondern durch Verabreichung von ausreichend wuchsstoffhaltiger Kost!

Andererseits haben die anderen Autoren recht, wenn sie einen ziemlich hohen Vitamin C-Bedarf des Menschen annehmen. Nur müssen sie hinzu-

setzen: das gilt dann, wenn durch Wuchsstoffe eine lebhafte Zellmauserung vorliegt, aber nicht die mesotrophische Überalterung.

Den Kern des Streites finden wir also darin, daß man die geheimnisvolle Wirkung der Wuchsstoffe nicht beachtet hat, sondern das Wachstum als ein selbstverständlich eintretendes Ergebnis des Lebens und des Stoffwechsels ansah.

Das Verhüten des Unheilbaren wird also durch die Aufstellung des Mesotrophiebegriffes auf eine klare Basis gestellt: Es ist dafür zu sorgen, daß stets eine lebhafte Zellmauserung vorhanden ist. Diese wird ermöglicht durch die zur Zellteilung führenden Stoffe und gesteuert durch die Intensität des Verbrauchs, des Umsatzstoffwechsels. Hier gilt das Gesetz, das ich in der II. Mitteilung für die Intensität des Wachstumsvorganges aufstellte: die Verbrauchsstärke regelt das normale Überangebot [21].

5. Die Blutbildung wird besonders studiert werden müssen. Ich habe früher gezeigt, daß bei aplastischen Kostformen Trockengehalt und Hämatokritwerte sinken, die Zahlen der Blutkörperchen aber keine Veränderung aufweisen [22]. Hier wird man bei der mesotrophischen Kost vor allem das Leukocytenbild und Lymphocytenbild zu beachten haben, die Veränderungen aufweisen. Ein genaues Studium war noch nicht möglich.

6. Ferner bestehen Beziehungen zur „alkalotischen" Kost von Katase, worauf ich ebenfalls in der XI. Mitteilung hinwies. Denn Arteriosklerose, Katarakt usw. wurden bei Katase ebenfalls beobachtet.

Diese ungeklärte Beziehung zur „Alkalose" wird in Verbindung zu setzen sein zu der Beobachtung von Rappoport, wonach bei bestimmten Kachexieformen in Leichen, z. B. Krebs und Tuberkulose, eine „postmortale Alkalose" nachzuweisen war [23].

In Verbindung mit der verminderten Zahl der Anaerobier im Darm, der Beobachtung von Entstehung krebserzeugender Stoffe durch aerobe Colibazillen [24] aus einer oxydierten Gallensäure scheinen mir hier wichtige Beziehungen zur Tumorforschung gegeben, zumal sich auch bei unseren Tieren drei Spontansarkome entwickelten (unter 2700 Ratten die einzigen!).

7. Praktisch am wichtigsten wird es sein, die Verbreitung der Wuchsstoffe in den zur täglichen Kost geeigneten Nahrungsmitteln zu untersuchen. Denn wenn man die Kost zu spät vervollkommnet, führt sie zum Tode (Abb. 9, Ratte 2424 und 2426).

8. Die weiteren Untersuchungen werden zu beachten haben, daß es sich hier nicht um direkte Diätwirkungen handelt, sondern um eine höchst komplizierte Reaktion des Körpers auf einen hochgradigen Mangel an lebens- und gesundheitswichtigen Stoffen. Das läßt es als durchaus nicht unmöglich erscheinen, daß nicht völlig gleichartige Wirkungen und

---

[21] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 478 f. (1932). — [22] Kollath u. Giesecke: Klin. Wschr. **1933**, Nr. 6. — [23] Z. exper. Med. **99**, 537 (1936). — [24] Druckrey, Naturw. **1941**, S. 63.

entsprechende Reaktionen durch andersartige Umwelteinflüsse hervorgerufen werden könnten. Ich erwähne Giftwirkungen (Alkohol?)[25], Infekte (Tuberkelbazillen?) und unspezifische Folgen konsumierender Erkrankungen.

Die mesotrophische Stoffwechsellage dürfte sich bei weiterer Erforschung als die umfassendste aller Mangelkrankheiten erweisen. Die speziellen Ausfälle im Gebiet der Rachitis, der Keratomalazie, der Beriberi und Pellagra sind viel zu unbedeutend gegenüber dieser universellen Störung, bei der nur Vitamin B_1 anwesend sein muß. Vielleicht werden wir finden, daß die Mesotrophie die wirkliche Grundlage der sogenannten Zivilisationsschäden, namentlich der Ernährungsschäden ist. Und wir werden zu berücksichtigen haben, daß Rachitis und Moeller-Barlow Krankheiten des Kindes sind, Beriberi und Pellagra nur unter besonderen einseitigen Lebensbedingungen entstehen, daß aber die Mesotrophie unter den Lebensgewohnheiten des zivilisierten Menschen eine bis ins Alter reichende Verbreitungsmöglichkeit aufweist. Hier wird dann der nunmehr geführte Beweis wichtig, daß eine Heilung der einmal ausgebildeten schweren Störungen nicht mehr möglich war, und daß deshalb alles auf die Vorbeugung ankommen wird. Und wenn auch der Erwachsene aus diesem Befund für seine Ernährung sicher noch viel Hinweise gewinnen kann, dann werden wir doch vor allem die Ernährung der werdenden Mütter, des Neugeborenen, des Kleinkindes bis zur Pubertät hier beachten müssen, damit die nächste Generation gesunder aufwächst als unsere.

Ich halte es für aussichtsreich, die Bekämpfung des Gebißverfalls von dieser Seite her vorzunehmen und nicht die Hoffnung auf die Verabfolgung eines der bekannten Vitamine zu setzen. Denn da diese bei vorhandener mesotrophischer Lage nicht wirken, haben sie keinen Zweck.

Ohne der weiteren Entwicklung vorgreifen zu wollen, seien folgende wuchsstoffhaltige Nahrungsstoffe empfohlen: alle Getreidekeime, auch die Gerstenkeime aus Brauereien; alle Hefen aus allen Betrieben.

Der Wachstumsvorgang, der bisher von der Vitaminforschung und auch der Medizin ziemlich vernachlässigt wurde, wird somit in das Zentrum der theoretischen Forschung und der Praxis gerückt. Damit wird der Beweis geführt, daß meine Annahme, von der aus ich 1932 diese Arbeitenreihe unter dem Titel „Das Wachstumsproblem und die Frage des Zellersatzes in der Vitaminforschung" begann, den wesentlichsten Kernpunkt des Ernährungsproblems erfaßte und daß alle anderen Mangelkrankheiten und Forschungsergebnisse diesem leitenden Gesichtspunkt unterzuordnen bzw. in ihn einzuordnen sind. Im Wachstumsvorgang haben wir die Gesamtsumme aller physiologischen Fähigkeiten auf entwicklungsgeschichtlicher Grundlage zu sehen: Das B_1 entwickelt sich vom Wuchsstoff in der Pflanze zum lebenserhaltenden Stoff im Tierreich. Die anderen Vitamine

[25] Ich setzte diese Tiere auch dem Tabakrauch aus. Die Tiere zeigten eine weit größere Empfindlichkeit als Normaltiere, erholten sich schwerer.

greifen nun teilweise mit Mineralien (Kalium, Natrium, Magnesium) in den Abbaustoffwechsel ein (wasserlösliche Vitamine und Mitwirkung von Redox-Systemen) und die fettlöslichen Vitamine bewirken mit bestimmten anderen Mineralien (Calcium, Phosphor) zusammen den Aufbau.

Damit ist die Vitaminforschung in ein natürliches System gebracht und die bisherige Einteilung braucht nur noch solange beibehalten zu werden, bis wir auf dieser Basis jedem Teilfaktor seine Teilaufgabe werden zuerkennen können. Auf dieser Basis werden wir alsdann die Mangelkrankheiten erklären können, den Weg von der Krankheitsbeschreibung zur Krankheitserklärung gehend. Auf diesem Wege aber gelangen wir zur Lösung allgemein pathologischer Aufgaben. Zu diesen Aufgaben gehört eine Erforschung desjenigen, was als „krankhaft" anzusehen ist, ob Krankheit etwas Hinzukommendes, Neues ist, ob sie immer nur einer „Abwehr" ihre Entstehung verdankt, oder ob nicht in allen Krankheiten die wahre Grundlage ein Mangel, eine Unvollkommenheit, aufzufinden ist. Was die Mangelschäden betrifft, so sind sicher sämtliche Schäden nicht als Abwehrreaktionen aufzufassen, sondern als Versuche zum Bestand des Lebens mit den unvollkommen gewordenen Mitteln. Mir scheint, daß wir von hier aus zu der allgemeinen Definition des Krankheitsbegriffes von Ribbert: Krankheit ist Verlustfolge! gelangen werden.

Diese Betrachtung ist ungemein wichtig, da wir überall, wo ein Verlust vorliegt, als Therapie die Schonung und langsame Übung verwenden werden; die heute vielfach übliche Anwendung starker Reizmittel erscheint hier bedenklich, während sie unter dem Gesichtspunkt: Krankheit ist Abwehr! gerechtfertigt erscheint. Wir rühren hier sonach an Grundfragen medizinischer Erkenntniskritik.

Zusammenfassung.

1. Es wird der Begriff „Mesotrophie" in die Ernährungslehre und die Lehre von den Mangelkrankheiten eingeführt.

2. Unter Mesotrophie verstehe ich eine Stoffwechsellage im tierischen Stoffwechsel, die dann eintritt, wenn keine Wuchsstoffe in der Kost vorkommen und von allen anderen Vitaminen lediglich das Vitamin B_1 in normaler Dosis vorhanden ist. Mineralien können ebenfalls bis auf primäres Kaliumphosphat fehlen.

3. Bei dieser Kost erweisen sich die bekannten fett- und wasserlöslichen Vitamine als wirkungslos.

4. Als Folgen dieses mesotrophischen Zustandes entwickeln sich „Alterskrankheiten". Bei allen Tieren traten schwere Störungen des Kalkstoffwechsels auf, ferner Lungenblähung und Nierenschrumpfung. Bei einzelnen Gruppen ferner Katarakt, Ödeme, Ikterus, Spontansarkome, Cysten. Ferner wiesen die Backenzähne Caries auf. Im Stoffwechsel waren die Werte erniedrigt, so daß sie an der unteren Grenze des Durchschnitts lagen. Die Veränderungen sind unheilbar.

5. Wuchsstoffe wurden nachgewiesen im Getreidekeim, in früheren Versuchen auch in Hefe, rohen Kartoffeln, Tomaten, Erbsen, Kastanien usw. Besondere Beobachtungen sprechen dafür, daß mindestens zwei Wuchsstoffe notwendig sind.

6. Wuchsstoffe fehlen in Fleisch, Feinmehl, Zucker, Fett.

7. Die Vorwürfe, die diesen Nahrungsmitteln gemacht werden, beruhen nicht auf einer „Schädlichkeit", sondern auf einem Mangel an Wuchsstoffen. Vervollkommnung der Nahrung verleiht diesen Nahrungsmitteln erst ihren vollen Wert.

8. Wuchsstoffe werden bei Temperaturen über 160° C zerstört. Eine hohe Röntgendosis führte nicht zur Zerstörung.

9. Die Mesotrophie ist vielleicht die umfassendste Mangelkrankheit. Es sind die Beziehungen zu folgenden Problemen zu erforschen: Hypophysenhormon, Thymusdrüse; Beeinflussung der Darmbakterien „Dysbakterie" (es findet sich Rückgang der Anaerobier im Kot!); Immunisierungsvorgänge (es fehlte die Bildung von Lysinen!).

10. Es wird die Beziehung der Mesotrophie zum Vitamin C-Bedarf erörtert. Bei Fleisch-Talgkost entsteht Mesotrophie. Dann fehlt ein C-Bedarf. Vielleicht erklärt sich hier die bisher nicht gelöste Frage des menschlichen Bedarfs.

11. Wuchsstoffe sind für Blutbildung wichtig, sowohl für rote wie weiße Blutkörperchen.

12. Infolge des Auftretens von 3 Spontansarkomen bei dieser mesotrophischen Kost besteht auch eine Beziehung zum Tumorproblem, ebenso zur „alkalotischen" Kost von Katase.

13. Es wird zu beachten sein, ob nicht bestimmte Zellgifte oder Infekte indirekt die Mesotrophie hervorrufen können, auch wenn die Nahrung vollwertig erscheint. Dann würden die anderen Vitamine wirkungslos (Alkohol, Tabak, Tuberkulose kommen in Betracht).

14. Als Vorbeugungsmaßnahmen kommt vor allem Verfütterung von wuchsstofffreichen Keimen und Hefen an werdende Mütter und die Jugend in Betracht.

15. Es werden die Beziehungen zum Krankheitsbegriff im allgemeinen besprochen, ebenso zur Therapiewahl.

Literatur.

Kollath: I. bis XIII. Mitteilung der Arbeitenfolge: „Das Wachstumsproblem und die Frage des Zellersatzes in der Vitaminforschung". Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 469, 478, 507, 521, 538 (1932); **168**, 424 (1932); **170**, 285, 635, 666 (1933); **189**, 188, 514, 530 (1938); **192**, 26 (1939). — Kollath: Zusammenfassung der eigenen Arbeiten in „Grundlagen, Methoden und Ziele der Hygiene." Leipzig, Verlag Hirzel, 1937. — Kollath: Gesamtbesprechung der einschlägigen Fragen in: „Naturgesetze und Lebensgesetze als Grundlagen der Gesundheitslehre." Stuttgart, Hippokratesverlag; z. Z. im Druck.

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Sofia.
(Direktor: Prof. Dr. D. P. Orahovats.)

Die Bedeutung der Blutgefäße und des Herzens für die Regulierung des Blutdruckes.

VIII. Mitteilung: Hypophysin, Tonephin, Ergotamin, Sympatol, Suprifen, Chloroform, Reizung des Rückenmarks u. a. Wirkung auf die Blutgefäße, das Herz und den Blutdruck.

Von

T. Gotsev.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. März 1941.)

In der vorliegenden Arbeit haben wir uns zur Aufgabe gestellt, den Einfluß auch einiger anderer Stoffe auf den Zustand der Blutgefäße zu erforschen, sowie auch das Verhältnis zwischen diesen Veränderungen und denjenigen im Niveau des Blutdruckes, ferner das Abhängigkeitsverhältnis zwischen den Veränderungen in der Herztätigkeit und denjenigen im Blutdruck. Untersucht wurden die Veränderungen im Volumen der Milz und im Zustand der Blutgefäße des Dünndarms, der Nieren und der Extremitäten bei intravenöser und intraarterieller Anwendung von Hypophysin, Tonephin, Ergotamin, Sympatol, Suprifen und ebenso die Veränderungen, welche eintreten, wenn man das Tier Chloroform einatmen läßt; endlich diejenigen, die bei Reizung des Rückenmarks in der Halsgegend erfolgen. Mit einem Wort, es wurden Stoffe und Handhabungen benutzt, die das Niveau des Blutdruckes in der einen oder anderen Richtung hin verändern können.

Die Versuche wurden an Hunden vorgenommen, die mit Luminal-Natrium narkotisiert wurden. Die Technik ist dieselbe, die wir auch bei den anderen Untersuchungen zur Anwendung brachten.

Ergebnisse.

1. Hypophysin.

Die Veränderungen im Blutdruckniveau, die das Hypophysin bei intravenöser Verabfolgung hervorrief, sind verschieden. In einigen Fällen tritt allmähliches Steigen des Blutdruckes ein, das stärker oder schwächer ausgeprägt sein kann, in anderen Fällen erfolgt allmähliches Absinken des Blutdruckes, und in dritten Fällen kann der letztere auch unverändert bleiben.

Die intravenöse Anwendung des Hypophysins verursacht Zusammenziehung der Milz und Zusammenziehung der Blutgefäße des Dünndarms. Die Blutgefäße der Nieren ziehen sich manchmal zusammen, manchmal erweitern sie sich und diejenigen der Extremitäten erfahren nur passive Veränderungen, die vollständig von den Veränderungen im Blutdruckniveau abhängig sind.

Das, was bei diesen Versuchen an erster Stelle Eindruck macht, ist der Umstand, daß die Veränderungen im Widerstand der Blutgefäße nur an und für sich die im Blutdruckniveau eintretenden Veränderungen nicht erklären können. So beobachtet man häufig Absinken des Blutdruckes, begleitet von Zusammenziehung der Blutgefäße des Dünndarms, der Nieren und der Extremitäten und Zusammenziehung der Milz. Allerdings gibt es auch Zusammenziehung der Blutgefäße der Bauchorgane

Abb. 1. 8. Juli 1939. Hund, 6,5 kg, ♀. *DD* = Dünndarmvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ▲ wurde Hypophysin „Bayer" 3 VE in die V. jugularis ext. injiziert.

und Steigen des Blutdruckes, doch erfolgt dies durchaus nicht in allen Fällen. Alles in allem kann gesagt werden, daß die Veränderungen in den Blutgefäßen meistenteils passiv sind, bedingt und unabhängig von denjenigen im Blutdruck. Sie beginnen nach denjenigen im Blutdruck und dauern solange wie diese.

Auf Abb. 1 ist ein Fall dargestellt, in dem unter der Einwirkung von 3 VE Hypophysin „Bayer", venös eingespritzt, Absinken des Blutdruckes und passives Zusammenziehen der Blutgefäße des Dünndarms einsetzt, das seinerseits auf der Verbesserung des Blutdruckes folgt und gleichzeitig mit ihr aufhört. Abb. 2 gibt das Ergebnis eines anderen Versuches wieder, wo unter dem Einfluß von Hypophysin passive Erweiterung der Blutgefäße der Nieren eintritt.

Die Untersuchung der Herztätigkeit bringt zutage, daß in den Fällen, in denen der Blutdruck steigt, die Herztätigkeit zunimmt, in denjenigen Fällen, in denen der Blutdruck sinkt, die Herztätigkeit abnimmt und endlich in den Fällen, wo der Blutdruck unverändert bleibt, die Herztätigkeit

sich nicht verändert. Auch hier hängen die Veränderungen im Blutdruckniveau vollkommen von denjenigen in der Herztätigkeit ab.

2. Tonephin.

Die Wirkung des Tonephins auf den Blutdruck und auf die Blutgefäße bei seiner intravenösen Anwendung ist derjenigen des Hypophysins sehr ähnlich. Der Blutdruck erfährt meistens eine zweiphasige Veränderung, ausgedrückt in vorübergehender leichter Erhöhung, die all-

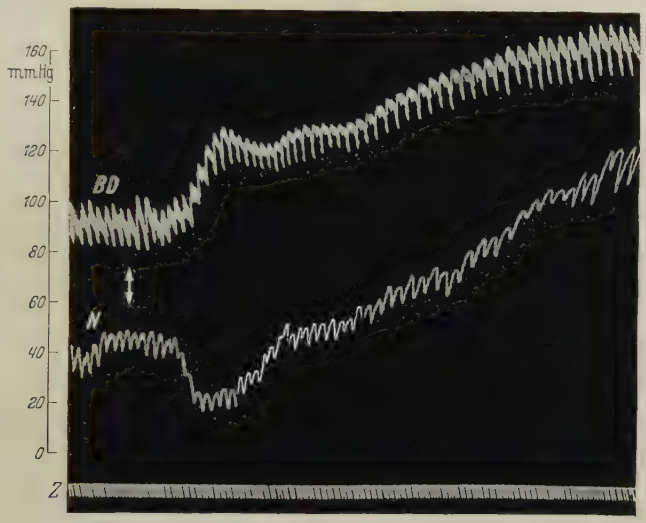


Abb. 2. 18. August 1939. Hund, 12 kg, ♀. *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *N* = Nierenvolumen, *O* = Blutdrucknullniveau, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ↕ wurde Hypophysin 10 VE in die V. jugularis ext. injiziert.

mählich eintritt und der ein stärker ausgeprägtes allmähliches Absinken folgt. In anderen Fällen tritt nur leichtes Steigen ein und in dritten — nur Absinken des Blutdruckes.

Auf die Blutgefäße übt das Tonephin in den meisten Fällen nur einen passiven Einfluß aus, der ausschließlich von den Veränderungen im Blutdruckniveau abhängt, und zwar erfolgt bei Steigen des Blutdruckes Erweiterung und bei Absinken desselben Zusammenziehung der Blutgefäße. Eine Ausnahme macht die Milz, die in allen Fällen mit Zusammenziehung reagiert. Charakteristisch für das Tonephin ist, daß in den Fällen, in denen der Blutdruck steigt, die Milz, bevor sie beginnt sich zusammenzuziehen, eine vorübergehende leichte Vergrößerung ihres Volumens aufweist. Dies ist auch bei dem Adrenalin bekannt, doch trifft man diese Eigentümlichkeit bei dem Tonephin häufiger und stärker ausgeprägt an. Bei den Versuchen mit Tonephin beobachtet man sehr oft gleichzeitig mit der Erhöhung des Blutdruckes passive Vergrößerung des Volumens der Milz

und passive Erweiterung der Blutgefäße der Bauchorgane und der Extremitäten.

Auf Abb. 3 ist ein Fall dargestellt, aus dem deutlich hervorgeht, daß die unter dem Einfluß von Tonephin in den Blutgefäßen eintretenden Veränderungen passiv sind und auf die Veränderungen im Niveau des Blutdruckes folgen. In diesem Falle erleidet der Blutdruck eine zweiphasige Veränderung, und zwar anfängliche Erhöhung und darauffolgendes Absinken. Auch die Veränderungen in den Blutgefäßen sind zweiphasig, nämlich anfängliche Erweiterung und darauffolgende Zusammenziehung.

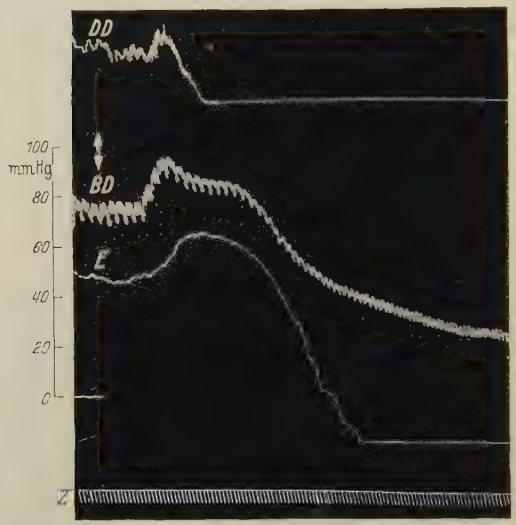


Abb. 3. 8. Juli 1939. Hund, 9,5 kg, ♀. *DD* = Dünndarmvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *E* = Extremitätsvolumen, *O* = Blutdrucknullniveau, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ↕ wurde Tonephin „Bayer" 1 ccm in die V. jugularis ext. injiziert.

In den meisten Fällen können die Veränderungen, die unter der Einwirkung von Tonephin im Blutdruck eintreten, nicht in ursächliche Abhängigkeit von den Veränderungen im Widerstand der Blutgefäße der Bauchorgane und der Extremitäten gebracht werden, sondern gerade umgekehrt, diese hängen von den Veränderungen im Blutdruck ab; sie beginnen nach denjenigen im Blutdruck und verlaufen parallel mit ihnen.

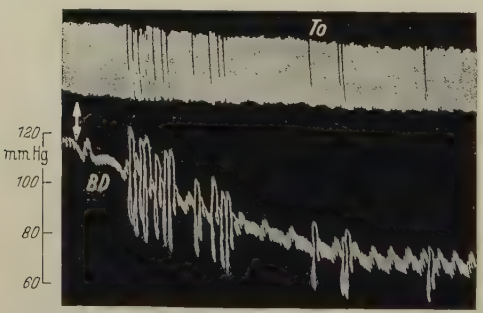


Abb. 4. 9. Oktober 1939. Hund, 25 kg, ♂. T_o = Tonogramm der linken Kammer, *BD* = Blutdruck in der A. carotis. Bei ↕ wurde Tonephin „Bayer" 1 ccm in die V. jugularis ext. injiziert.

Die gleichzeitige Untersuchung der Herztätigkeit und des Blutdruckes erweist, daß in allen Fällen eine ursächliche Abhängigkeit besteht, indem die Veränderungen im Blutdruck vollkommen von denjenigen in der Herztätigkeit abhängig sind. In den Fällen, in denen das Tonephin die Herztätigkeit fördert, erfolgt Steigerung, in den Fällen, in denen es die Herztätigkeit herabsetzt, tritt Absinken des Blutdruckes ein. Abb. 4 stellt einen Fall dar, bei dem diese Abhängigkeit klar zutage tritt.

3. Ergotamin tartaricum.

Die intravenöse Anwendung von Ergotamin verursacht Erhöhung des Blutdruckes, die schnell eintritt und ein verhältnismäßig hohes Niveau erreicht.

Was den Einfluß des Ergotamins auf die Blutgefäße betrifft, so hängt dieser vor allem von der Stelle ab, an der die Einspritzung vorgenommen wird, ob in die arterielle oder venöse Seite des Blutgefäßsystems. Die Verabfolgung des Ergotamins in das arterielle System bewirkt starke und langanhaltende Zusammenziehung der Blutgefäße von denjenigen Organen, zu denen das Ergotamin gelangt, bevor es durch das Herz geht. Die Einspritzung von

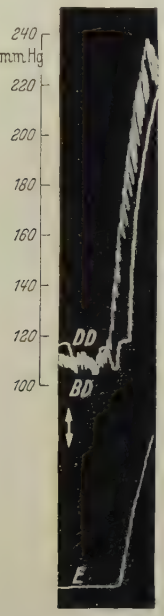


Abb. 5. 8. Juni 1940. Hund, 17 kg, ♂. *DD* = Dünndarmvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *E* = Extremitätsvolumen. Bei ↕ wurde 0,5 mg Ergotamin tartaricum (Gynergen Sandoz) in die V. jugularis ext. injiziert.

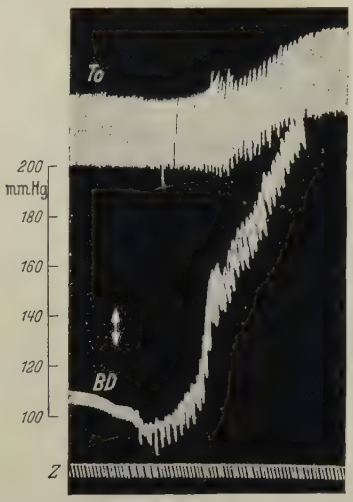


Abb. 6. 19. August 1939. Hund, 15 kg, ♂. T_0 = Tonogramm der linken Kammer, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ↕ wurde 0,5 mg Ergotamin tartaricum (Gynergen Sandoz) in die V. jugularis ext. injiziert.

Ergotamin in die Arterie einer Extremität verursacht starke und langdauernde Zusammenziehung der Blutgefäße derselben Extremität, eine Zusammenziehung, wie sie bei der Anwendung eines anderen Stoffes selten beobachtet wird. Die Entspannung der Blutgefäße geht langsam, im Verlaufe von 2—3 Minuten vor sich, wonach die Extremität allmählich ihren vorherigen Zustand der Blutfüllung wieder annimmt.

Die Verabfolgung von Ergotamin in die Arterie einer Extremität führt zu langanhaltender Zusammenziehung der Blutgefäße derselben Extremität und zu leichter Erweiterung von denjenigen der anderen Extremitäten. Diese Erweiterung ist passiv. Sie folgt auf die Blutdruck-

steigerung und ist von ihr abhängig. In diesen Fällen beobachtet man zwei verschiedene funktionelle Veränderungen im Zustand der Blutgefäße der Extremitäten, Zusammenziehung der einen und Erweiterung der anderen.

Die Einspritzung von Ergotamin in die venöse Seite des Blutgefäßsystems verursacht in den meisten Fällen passive Veränderungen im Zustand der Blutgefäße, die von der Veränderung im Blutdruck abhängig sind. Zusammen mit der Steigerung des Blutdruckes tritt Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms, der Nieren und der Extremitäten ein. Nur die Milz macht eine Ausnahme, indem sie sowohl bei arterieller, wie auch bei venöser Anwendung von Ergotamin mit Zusammenziehung reagiert.

Abb. 5 stellt einen Fall dar, wo das Ergotamin Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten und zusammen hiermit Erhöhung des Blutdruckes verursacht.

Es ist klar, daß auch hier die Veränderungen im Blutdruckniveau nicht von Veränderungen im Widerstand des Blutgefäßsystems der großen Gefäßgebiete des Splanchnicus und der Extremitäten bedingt sein können.

Bei der Anwendung gleicher Dosen Ergotamin an verschiedenen Stellen des Blutgefäßsystems stellt man einen Unterschied in der Größe seiner Wirkung auf den Blutdruck fest, und zwar ist die Blutdrucksteigerung bei arterieller Anwendung schwächer ausgeprägt als bei venöser Einspritzung.

Die Untersuchungen der Veränderungen in der Herztätigkeit unter dem Einfluß von Ergotamin ergaben eine Förderung derselben. Dieser Veränderung folgt eine entsprechende Steigerung des Blutdruckes. Hierbei wird eine vollkommene ursächliche Abhängigkeit der Veränderung im Blutdruck von derjenigen in der Herztätigkeit festgestellt. Dies geht auch aus Abb. 6 hervor.

4. Sympatol.

Auch das Sympatol bewirkt bei intravenöser Anwendung in den meisten Fällen passive Veränderung im Zustand der Blutgefäße, die auf die Erhöhung des Blutdruckes folgt. Eine Ausnahme machen die Milz und die Blutgefäße der Nieren, die, wie unter der Einwirkung des Adrenalins, so auch unter der des Sympatols, sich in allen Fällen zusammenziehen.

Das Sympatol bewirkt Förderung der Herztätigkeit und Erhöhung des Blutdruckes.

5. Suprifen.

Seine intravenöse Anwendung zeitigt meistens eine vorübergehende leichte Steigerung, gefolgt von leichtem Absinken des Blutdruckes. Die Veränderungen in den Blutgefäßen sind passiv und folgen den Veränderungen im Blutdruckniveau (Abb. 7). Auch hier macht die Milz eine Ausnahme.

6. Chloroform.

Gibt man einem mit Luminal-Natrium narkotisierten Tier Chloroform einzuatmen, so verursacht dies Absinken des Blutdruckes und zusammen hiermit passive Veränderungen in den Blutgefäßen der Bauchorgane und der Extremitäten, die in Zusammenziehung zum Ausdruck kommen.

Abb. 7. 31. August 1939. Hund, 13 kg, ♀. *DD* = Dünndarmvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *E* = Extremitätsvolumen, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ↕ wurde Suprifen „Bayer" 1 ccm in die V. jugularis ext. injiziert.

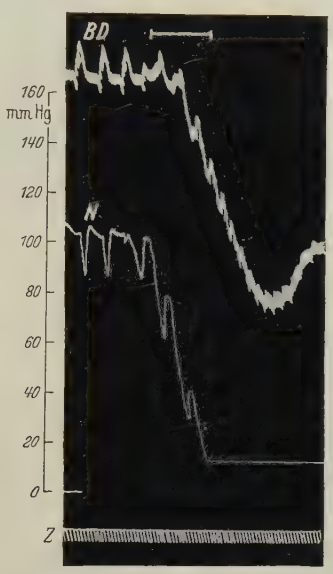


Abb. 8. 10. August 1939. Hund, 9,5 kg, ♂. *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *N* = Nierenvolumen, *O* = Blutdrucknullniveau, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei |——| wurde dem Tiere Chloroform einzuatmen gegeben.

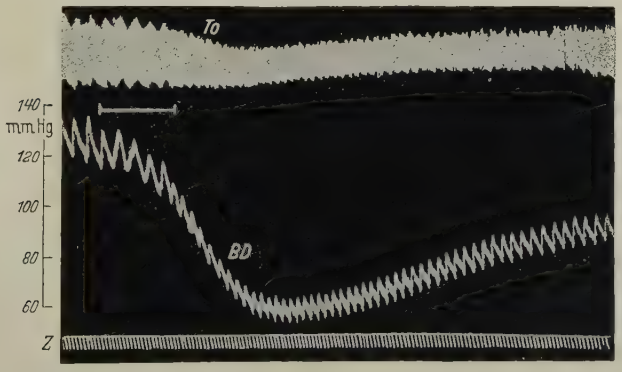


Abb. 9. 15. August 1939. Hund, 16 kg, ♂. T_o = Tonogramm der linken Kammer, *BD* = Blutdruck in der A. carotis. *Z* = Zeit in Sekunden. Bei |——| wurde dem Tiere Chloroform einzuatmen gegeben.

Abb. 8 gibt einen Fall wieder, in dem man einen Hund vermittels Maske einige Tropfen Chloroform einatmen ließ. Man sieht, daß gleich-

zeitig mit dem Absinken des Blutdruckes passive Zusammenziehung der Blutgefäße der Nieren erfolgt.

Abb. 9 zeigt einen Fall, in dem unter der Einwirkung von Chloroform Verminderung der Herztätigkeit und entsprechendes Absinken des Blutdruckes eintritt.

7. Magnesiumsulfat.

Die Einspritzung von verhältnismäßig stärker konzentrierten Magnesiumsulfatlösungen, wie z. B. 20- oder 30%ige, verursacht deutliche Abnahme der Herztätigkeit und gleichzeitig hiermit Absinken des Blutdruckes. Bei Anwendung großer Dosen, wie z. B. einige ccm gesättigter Lösung, tritt eine allmähliche Verminderung der Herztätigkeit ein, und entsprechend hiermit ein allmähliches Absinken des Blutdruckes. Nach etwa einer Minute geht das Herz in Flimmern über und der Blutdruck fällt bis zum Nullpunkt des Manometers. Das Tier stirbt ohne irgendeine Bewegung.

Die Veränderungen in der Herztätigkeit und ihr Zusammenhang mit den Veränderungen im Blutdruckniveau können sehr leicht festgestellt werden, wenn gleichzeitig mit dem Registrieren des Blutdruckes das Herz durch das Zwerchfell bei geöffnetem Bauch palpiert wird. Die Veränderungen in der Herztätigkeit und ihre Folgen für den Blutdruck können mit bloßem Auge bei geöffnetem Brustkorb des Tieres und gleichzeitigem Registrieren des Blutdruckes in einer Arterie festgestellt werden.

Dieselben Ergebnisse erhält man, wenn man die Herztätigkeit und den Blutdruck gleichzeitig registriert.

8. Reizung des Rückenmarks.

Bei einigen Versuchen wurde, nach Öffnung der Wirbelsäule und Freilegung des Rückenmarks, nach der Methode von Orahovats (1), eine mechanische Reizung des Rückenmarks in der Halsgegend vermittels Zusammendrücken des Rückenmarks mit Pinzette vorgenommen. In den Fällen, in denen die Narkose des Tieres nicht sehr tief ist, ruft die Reizung eine Blutdrucksteigerung hervor, die derjenigen unter der Einwirkung des Adrenalins sehr ähnlich ist. Zusammen mit der Erhöhung des Blutdruckes erfolgt auch passive Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten. Auch bei diesen Versuchen können die Veränderungen im Widerstand der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten die Veränderungen im Blutdruck nicht erklären, sondern gerade umgekehrt, letztere können nur durch die im Blutdruck eintretenden Veränderungen erklärt werden.

Die Untersuchung der Herztätigkeit zeigt auch in diesen Fällen, daß eine Förderung der Herztätigkeit vor sich geht, und daß diese die unmittelbare Ursache für die Blutdrucksteigerung ist.

Besprechung der Ergebnisse.

Auch bei diesen Versuchen mit intravenösem Einspritzen verschiedener Stoffe, die den Blutdruck in der einen oder anderen Richtung hin beeinflussen, wurde festgestellt, daß die Blutgefäße der Bauchorgane und der Extremitäten in den meisten Fällen mit passiven Veränderungen reagieren, welche denjenigen im Blutdruck folgen und vollkommen von ihnen abhängig sind. Der Steigerung des Blutdruckes folgt Erweiterung, dem Absinken — Zusammenziehung der Blutgefäße. Diesbezüglich besonders ins Auge springend sind die Versuche mit Hypophysinextrakten, in denjenigen Fällen, in denen sie zweiphasige Veränderungen im Blutdruckniveau bewirken, ausgedrückt in vorübergehender Steigerung, gefolgt von sekundärem Absinken. In diesen Fällen tritt in den Blutgefäßen der Bauchorgane und der Extremitäten vorübergehende Erweiterung, gefolgt von sekundärer Zusammenziehung ein. Die Kurve des Blutdruckes und die Onkogramme verlaufen parallel.

Die Ursache für die Veränderungen im Blutdruckniveau, die unter dem Einfluß der weiter oben aufgezählten Stoffe und Handhabungen vor sich gehen, ist nicht in der Veränderung im Widerstand der Blutgefäße der Bauchorgane und der Extremitäten zu finden, da diese nach Beginn der Veränderung im Blutdruck anfangen, und meistens sind es von der letzteren bedingte passive Veränderungen.

Unabhängig davon stellt man in allen Fällen völlige ursächliche Abhängigkeit der Veränderungen im Blutdruck von denjenigen, die in der Herztätigkeit eintreten, fest, und zwar sowohl an ganzen unversehrten Tieren wie auch an solchen mit verkürztem großen Blutkreislauf.

Zusammenfassung.

1. Hypophysin und Tonephin verursachen verschiedene Veränderungen im Blutdruckniveau, und zwar in manchen Fällen Steigerung, in anderen Fällen Absinken und in dritten Fällen zweiphasige Veränderungen, ausgedrückt in vorübergehender Steigerung und nachfolgendem Absinken. Das Suprifen bewirkt meistens eine ähnliche zweiphasige Veränderung im Blutdruck.

2. Intravenöses Einspritzen von Hypophysin, Tonephin, Ergotamin, Sympatol, Suprifen, Einatmen von Chloroform, Reizung des Rückenmarks u. a. zeitigen meistens passive Veränderungen im Zustand der Blutgefäße der Bauchorgane und der Extremitäten. In den Fällen, in denen der Blutdruck steigt, erfolgt Erweiterung, und in den Fällen, in denen er absinkt, erfolgt Zusammenziehung der Blutgefäße; in denjenigen Fällen, in denen eine zweiphasige Veränderung im Blutdruck eintritt, setzt eine zweiphasige Veränderung auch im Zustand der Blutgefäße ein, die parallel mit derjenigen im Blutdruck verläuft.

3. Zwischen den Veränderungen in der Herztätigkeit und denjenigen im Blutdruck besteht ein völliges Abhängigkeitsverhältnis. In den Fällen, in denen die Herztätigkeit gefördert wird, tritt Steigerung des Blutdruckes ein, in den Fällen, in denen die Herztätigkeit verringert wird, erfolgt Absinken des Blutdruckes. Das Ergotamin und das Sympatol verursachen Förderung der Herztätigkeit und Steigerung des Blutdruckes, während das Hypophysin, das Tonephin und das Suprifen Förderung oder Abnahme der Herztätigkeit hervorrufen, denen zufolge der Blutdruck steigt oder absinkt. In den Fällen, in denen diese Stoffe eine zweiphasige Veränderung in der Herztätigkeit bewirken, tritt eine zweiphasige Veränderung auch im Niveau des Blutdruckes ein.

Schlußbetrachtung.

Die Ergebnisse der an mehr als 150 Hunden ausgeführten Versuche, die der Gegenstand vorliegender Arbeit sind, zeigen, daß die intravenöse Anwendung einer Reihe bekannter Stoffe Veränderungen im Zustand der Blutgefäße großer Gefäßgebiete hervorrufen, und zwar des Splanchnicus und der Extremitäten, Veränderungen, die denjenigen, die bisher allgemein bekannt und angenommen waren, entgegengesetzt sind. So wurde festgestellt, daß Adrenalin, Veritol, Ephedrin, Ergotamin u. a. Erweiterung, nicht Zusammenziehung der Blutgefäße bewirken, während Histamin und Azetylcholin Zusammenziehung verursachen, und nicht Erweiterung, wie man dies bisher meinte.

In einer anderen Arbeit hatten wir (2) die Möglichkeit, festzustellen, daß die allgemein bekannten Reagierungsarten der Blutgefäße bei Einführung eines gegebenen Stoffes in den Blutkreislauf nur dann eintreten, wenn der betreffende Stoff in den arteriellen Teil des Blutgefäßsystems eingespritzt wird, und nur diejenigen Gefäßgebiete in Mitleidenschaft ziehen, durch die der Stoff hindurchgeht, bevor er das Herz erreicht. Diese Art des Reagierens der Blutgefäße ist spezifisch für jeden Stoff, und sie ist die allgemein bekannte. Man beobachtet sie auch bei Perfusionsversuchen, wenn der Einfluß des Herzens ausgeschlossen ist. In allen übrigen Fällen, wenn der betreffende Stoff subcutan oder venös angewendet wird, erfolgt eine Veränderung, die derjenigen, die man bei der arteriellen Verabfolgung beobachtet, entgegengesetzt ist. In diesen Fällen tritt meistens passive Veränderung im Zustand der Blutgefäße ein, bedingt von der Veränderung im Blutdruckniveau, nämlich: bei Steigen des Blutdruckes erfolgt passive Erweiterung, und bei Absinken des Blutdruckes — passive Zusammenziehung der Blutgefäße. Die für den betreffenden Stoff spezifische Art der Beeinflussung der Blutgefäße kann sich nicht äußern. Die Blutanfüllung der Gefäßgebiete wird von der Veränderung im Blutdruck beeinflußt, und infolgedessen erfahren die Blutgefäße eine passive Veränderung — Erweiterung oder Zusammenziehung, ohne daß sich die

für den betreffenden Stoff spezifische Veränderung zeigen kann. Eine Ausnahme von solcher allgemeinen Regel machen zwei Organe, nämlich die Milz, die immer mit Zusammenziehung reagiert, unabhängig von der Stelle, an welcher der Stoff eingeführt wird, und danach die Blutgefäße der Nieren, die unter der Einwirkung von Adrenalin, in den einen oder anderen Teil des Blutgefäßsystems eingespritzt, nur mit Zusammenziehung, nie mit Erweiterung reagieren. Dies bezieht sich aber nur auf das Adrenalin; die ihm verwandten Stoffe, wie Veritol und Ephedrin, verursachen entweder Erweiterung oder Zusammenziehung der Blutgefäße der Nieren, je nach der Stelle, wo der Stoff eingeführt wird.

In einigen Fällen erfolgt bei intravenöser Anwendung einiger Stoffe nach anfänglich eingetretener passiver Veränderung im Zustand der Blutgefäße die für den betreffenden Stoff spezifische Veränderung, so daß man eine zweiphasige Reaktion der Blutgefäße beobachtet, ausgedrückt in anfänglicher Zusammenziehung und darauffolgender Erweiterung oder umgekehrt. In diesen Fällen tritt die spezifische Veränderung als sekundäre, nicht als primäre Folgeerscheinung der Wirkung des betreffenden Stoffes ein.

Die Ergebnisse der Versuche zeigen, daß die Veränderungen im Blutdruckniveau, die bei venöser Anwendung der meisten Stoffe eintreten, nicht in ursächliche Abhängigkeit von den Veränderungen im Widerstand der Blutgefäße gebracht werden können, und zwar aus folgenden zwei hauptsächlichen Ursachen: 1. Die Veränderungen im Zustand der Blutgefäße folgen auf diejenigen im Blutdruck, gehen ihnen nicht voraus, und 2. in den meisten Fällen tritt eine passive Veränderung im Zustand der Blutgefäße ein, die darin zum Ausdruck kommt, daß die Blutdrucksteigerung zu Erweiterung, und das Absinken des Blutdruckes zu Zusammenziehung der Blutgefäße führt. Mit einem Wort, die im Zustand der Blutgefäße eintretenden Veränderungen sind die Folge, nicht die Ursache der Veränderung im Blutdruck.

Die Versuche mit Eviszerierung der Tiere und die mit Verkürzung des großen Blutkreislaufes zeigen, daß auch nach Ausschaltung großer Gefäßgebiete aus dem gesamten Blutkreislauf die Veränderungen im Blutdruckniveau auf dieselbe Weise vor sich gehen und dasselbe Niveau erreichen wie bei ganzen unversehrten Tieren.

Bei der Anwendung von den meisten der oben erwähnten Stoffe direkt in das arterielle System tritt die Veränderung im Blutdruckniveau nach einer längeren Latenzzeit ein als bei venöser Verabfolgung. In einigen Fällen besonders, wie beim Adrenalin, ist die Veränderung im Niveau des Blutdruckes verhältnismäßig kleiner als die bei der venösen Einspritzung. Trotzdem bei arterieller Anwendung der Stoff direkt zu großen Gefäßgebieten gelangt, und dies bei venöser Anwendung erst dann geschieht, wenn derselbe durch das Herz gegangen ist, tritt im letzteren Falle die Veränderung im Blutdruck verhältnismäßig schneller und stärker ausgeprägt ein.

Bei aufeinanderfolgender venöser Verabfolgung zwei verschiedener Stoffe bei ein und demselben Tier in einem bestimmten Zeitabstand, kann man zwei einander entgegengesetzte Veränderungen im Blutdruckniveau beobachten, nämlich Steigen und Absinken, trotzdem in allen beiden Fällen die Veränderungen im funktionellen Zustand der Blutgefäße großer Gefäßgebiete gleich sind, z. B. Zusammenziehung. Außerdem kann man bei solcher Anwendung einiger Stoffe nacheinander zwei einander entgegengesetzte Veränderungen im Zustand der Blutgefäße beobachten, nämlich Zusammenziehung und Erweiterung, trotzdem in beiden Fällen die Veränderung im Blutdruckniveau qualitativ dieselbe ist, z. B. Steigerung.

Bei gleichzeitiger venöser Anwendung einer Mischung von zwei verschiedenen Stoffen beobachtet man Fälle, in denen der Einfluß derselben Stoffe auf den Blutdruck sich gegenseitig vernichtet und der Blutdruck das normale Niveau beibehält, trotzdem im Zustand der Blutgefäße stark ausgeprägte Veränderungen eintreten. Bei einer solchen Anwendung einer Mischung von zwei Stoffen beobachtet man ebenfalls Fälle, in denen bei ein und demselben Tier bei nacheinander erfolgenden Anwendung verschiedener Dosen beider Stoffe nacheinander verschiedene Blutdruckveränderungen eintreten, nämlich einmal Steigerung, ein andermal Absinken, und ein drittes Mal Aufrechterhaltung normalen Niveaus, unabhängig von dem Umstand, daß in allen drei Fällen ein und dieselbe Veränderung im Zustand der Blutgefäße erfolgt. Besonders demonstrativ in dieser Beziehung ist das Ergebnis des Versuches, das in Abb. 1 dargestellt ist, S. 495, Bd. 195 im selben Archiv. In diesem Falle verursacht die aufeinander erfolgende Einspritzung einer Mischung von verschiedenen Dosen Histamin und Adrenalin an ein und demselben Tier in einem bestimmten Zeitabstand nacheinander drei verschiedene Veränderungen im Blutdruckniveau, nämlich zuerst Absinken, danach Absinken, gefolgt von Steigerung und endlich nur Steigerung des Blutdruckes. Diese drei verschiedenen Veränderungen im Blutdruckniveau treten unabhängig davon ein, daß in allen drei Fällen eine gleich stark ausgeprägte Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten erfolgt. Bei gleicher funktioneller Veränderung im Zustand der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten erfolgen qualitativ verschiedene Veränderungen im Blutdruckniveau, und dies zeigt, daß hier die Ursache für die Veränderungen im Blutdruckniveau nicht in der Veränderung im Widerstand der Blutgefäße liegt, sondern in irgendeinem anderen Faktor.

Unabhängig von all dem bisher Gesagten zeigen gleichzeitige Untersuchungen der Veränderungen im Blutdruckniveau und diese in der Herztätigkeit, daß sich die Veränderungen im Blutdruck in vollständigem Abhängigkeitsverhältnis von denjenigen der Herztätigkeit befinden. Die Förderung der Herztätigkeit führt zu Erhöhung, die Abnahme der Herztätigkeit zu Absinken des Blutdruckes. Die Stoffe, welche den Blutdruck erhöhen, verursachen Förderung der Herztätigkeit. Diejenigen, welche

das Absinken des Blutdruckes bewirken, zeitigen die Verringerung der Herztätigkeit. Das Adrenalin, Veritol, Ephedrin, Tonephin, Sympatol u. a. fördern die Herztätigkeit und erhöhen hiermit den Blutdruck. Dies wird beobachtet bei ganz intakten Tieren, sowie auch bei solchen, bei denen große Gefäßgebiete vom Blutkreislauf ausgeschlossen sind. In solchen Fällen, in denen das Ephedrin, anstatt den Blutdruck zu erhöhen, ein Absinken desselben verursacht, wie dies in Fällen beobachtet wird, wenn die Anwendung desselben einer Verabfolgung von irgendeinem anderen Stoff vorausgeht, tritt dann an Stelle einer Förderung eine Abnahme der Herztätigkeit ein.

Das Histamin, Azetylcholin und die Magnesiumsalze verursachen Verminderung der Herztätigkeit und infolgedessen tritt Absinken des Blutdruckes ein. Dies wird beobachtet sowohl an unversehrten Tieren als auch an solchen, bei welchen große Gefäßgebiete vom Gesamtblutkreislauf ausgeschlossen sind. In solchen Fällen, in welchen das Azetylcholin Erhöhung des Blutdruckes verursacht an Stelle Absinken, wie dies beobachtet wird, wenn dasselbe beim atropinisierten Tier angewandt wird, tritt eine Förderung der Herztätigkeit ein, an Stelle einer Verminderung derselben.

Die Veränderungen des Blutdruckes stehen in völligem ursächlichem Abhängigkeitsverhältnis von den Veränderungen in der Herztätigkeit.

Die Ergebnisse der Versuche von Orahovats und Gotsev, die in den letzten acht Jahren durchgeführt wurden, sowie auch diese der vorliegenden Arbeit, geben uns hinlängliche Ursache, anzunehmen, daß das Herz der Hauptfaktor ist, welcher das Blutdruckniveau reguliert. Die Blutgefäße nehmen nur unbedeutenden Anteil in dieser Hinsicht. In den meisten Fällen erleiden sie nur passive Veränderungen, bedingt durch die Veränderungen im Blutdruckniveau. Die Bedeutung der Blutgefäße für die Regulierung des Blutdruckes wird allgemein überschätzt.

Literatur.

1) Orahovats, D. P.: Jb. Mediz. Fakultät Sofia **10**, 207 (1931). — 2) Gotsev, T.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 469 (1941).

Aus dem Institut für experimentelle Pathologie der Universität Wien.

Vergleichende Untersuchung der Wirkung verschiedener Saponine auf das Froschherz.

Von

Dr. med. **Wilhelm von Blumencron***,

Assistent am Universitätsinstitut und der Poliklinik für Konstitutionsmedizin an der Charité (Vorstand: Prof. Dr. Walther Jaensch.)

Mit 4 Textabbildungen (7 Einzelbildern).

(Eingegangen am 20. Februar 1941.)

Die chemische Untersuchung der Saponine, die in den letzten Jahren mit Erfolg betrieben wurde, ergab, daß man zwei chemisch prinzipiell verschiedene Gruppen unterscheiden muß: 1. Saponine, deren Aglukon ein Triterpen ist, 2. Saponine, deren Aglukon zur Cholangruppe gehört. Diese Gruppe ist also nahe verwandt mit den herzwirksamen Sterinen und den Sexualhormonen. Die chemische Untersuchung der ersten Gruppe, der Saponine der Triterpengruppe, steht in den ersten Anfängen. Die zweite Gruppe der Saponine ist in ihrem Aufbau weitgehend erforscht. Diese Gruppe ist verhältnismäßig klein, wenn man sie mit der großen Zahl der Saponine der Triterpengruppe vergleicht. Zur Cholangruppe gehören: Amolanin, Gitonin, Digitonin, Sarsaponin, Solanin.

Von den uns zur Verfügung stehenden Saponinen gehören demnach drei, nämlich: Digitonin, Sarsaponin und Solanin der Cholangruppe an, während die drei anderen untersuchten Saponine: Quillaya, Primula und Glycyrrhizin der Triterpengruppe zugerechnet werden müssen.

Nachdem in letzter Zeit weitgehend der Unterschied in der Wirkung verschiedener Substanzen in der Verschiedenheit ihrer chemischen Struktur gesehen wird, erscheint es von Interesse, ob man bei der großen Verschiedenheit der chemischen Struktur der beiden Saponinegruppen von einer Saponinwirkung oder Wirkung der einzelnen Saponine sprechen kann. Wie weit Konstitution und Wirkung voneinander abhängig sind, ersehen wir vielleicht am besten bei den Sterinen. Änderung in der Stellung der OH-Gruppe verändert weitgehendst die Wirkung oder hebt sie sogar auf. Dasselbe gilt auch für die herzwirksamen Glykoside, organische Arsenpräparate u. a. m.

Bei den Saponinen liegen die Verhältnisse insofern etwas anders, als den verschiedenen Saponinen viele gemeinsame Wirkungen zukommen

---

* Die Arbeit wurde im Institut für experimentelle Pathologie der Universität Wien (Kommis. Leiter: Prof. Dr. A. Feller) ausgeführt. Infolge des Krieges mußte die Publikation ohne Mitwirkung Prof. Fellers erfolgen.

(Hämolysevermögen, Schaumbildung, Reaktion mit Cholesterin). Untersuchungen, die von Gottdenker und Rothberger in der letzten Zeit mit Merckschem Saponin puriss albiss (Saponariasaponin) durchgeführt wurden, ergaben am Froschherz folgende Wirkung:

1. Anfängliche, rasch vorübergehende Erregungserscheinungen;
2. Verlangsamung, Dilatation der Kammer, Abschwächung der Kontraktion;
3. zunehmende Schrumpfung der Kammer, meist zuerst an der Spitze, Erweiterung der Vorhöfe;
4. systolischer Stillstand der Kammer bei dilatierten Vorhöfen;
5. der Kammerstillstand ist durch mehrmaliges Auswaschen nicht rückgängig zu machen.

Diese Befunde veranlaßten uns, die Untersuchung auf die obenerwähnten, chemisch genau definierten Saponine auszudehnen. Es war zu erwarten, daß eine prinzipiell verschiedene Wirkung den zwei Gruppen zukommt. Anderenfalls müßte man von einer Saponinwirkung im allgemeinen sprechen, die etwa gleichzusetzen wäre der Hämolysewirkung. Des weiteren untersuchten wir, ob in Analogie zu den Digitalisglykosiden eine Cumulierung von unterschwelligen Dosen zu sehen ist. Bei der nahen chemischen Verwandtschaft der Saponine der Cholangruppe mit den Digitalisglykosiden scheint es auch von Interesse, ob der Unterschied zur Digitaliswirkung auf das Froschherz bei den Saponinen der Cholanreihe ein geringerer ist wie bei den anderen Saponinen.

In den vorliegenden Versuchen beschränkten wir uns auf die Untersuchung der Wirkung auf das Mechanogramm des isolierten Froschherzens nach Straub.

Versuchsanordnung.

Ranae esculentae-Herzen wurden in der üblichen Weise nach Straub isoliert. Der Kontraktionsablauf wurde von der Herzspitze mittels Amsler-Schreiber auf einem Ruß-Kymographion registriert. Der Kanüleninhalt betrug in allen Versuchen 1 ccm. Von den Saponinen wurde in Ringerlösung eine 1 %ige Lösung hergestellt. Von dieser wurden dann die entsprechenden Verdünnungen ebenfalls mit Ringerlösungen hergestellt.

1. Beschreibung der Versuche mit Saponinen der Cholangruppe: Die letale Dosis betrug bei Digitonin 2,5 γ, Sarsaponin 1000 γ und Solanin 40 γ. Die Ausfallserscheinungen nach Vergiftung mit den einzelnen Saponinen waren wenig different. Die Wirkung tritt fast schlagartig nach dem Zusatz auf. Die Herzkammer dilatiert sich, wobei sowohl Frequenz als auch die Hubhöhen abnehmen. Diese Phase ist nur vorübergehend. Die Kammer geht allmählich in Kontraktur über, wobei besonders an der Herzspitze Kontraktionsrückstände auftreten. Gleichzeitig dilatieren sich die Vorhöfe. Ebenso wie in den Versuchen von Gottdenker und Rothberger fällt die Fluktuation der Erscheinungen auf. Scheinbar schwerste Ver-

Abb. 1.

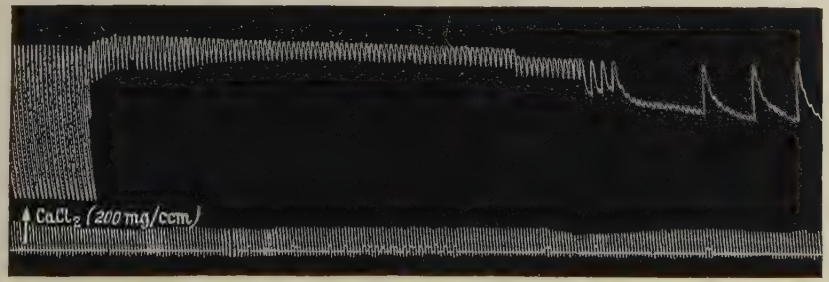
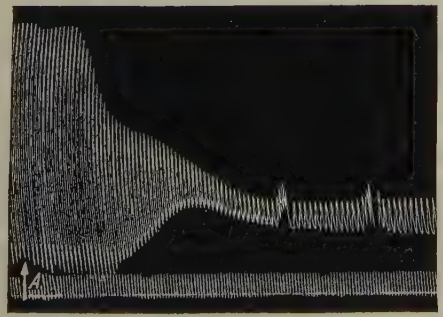
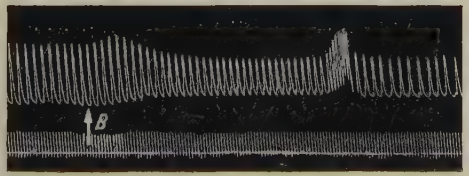


Abb. 2.





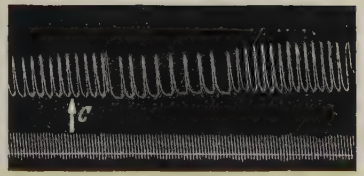


Abb. 3. Versuch vom 28. VI. 1939. 16 Uhr. *A*: 2,5 γ Quillaya. 16,20 Uhr. *B*: 10 γ Quillaya. 16,35 Uhr. *C*: 25 γ Quillaya. 16,50 Uhr. *D*: 50 γ Quillaya.

änderungen können zeitweise vollkommen zurückgehen. Schließlich tritt kompletter Herzstillstand auf, wobei auch die Vorhöfe, die eine Zeitlang noch regelmäßig schlugen, in Kontraktur übergehen. Wiederholtes Auswaschen mit einer saponinfreien Ringerlösung, wobei diese unter Druck in die Kammer gespritzt wurde, vermochte den Herzstillstand nicht aufzuheben. Setzt man der Ringerlösung $CaCl_2$ zu (200 mg/ccm), so wird die Automatie wieder erweckt, wobei es zu eigentümlichen Gruppenbildungen (Luciani-Perioden) kommt. Gleichzeitig nimmt aber auch die Kontraktur zu. Nach einigen Minuten ist die Calciumwirkung abgeklungen und das Herz steht wieder still. Siehe Abb. 1, 2. Dieselbe Wirkung des $CaCl_2$ ist auch bei einem nicht mit Saponin geschädigten Herzen zu sehen.

2. Die Wirkung der Saponine der Triterpengruppe: Die letale Dosis betrug bei Quillaya 5 γ, Primula 20 γ, Glycyrrhizin 5000 γ. Die Ausfallserscheinungen bei den einzelnen Saponinen derselben Gruppe als auch zwischen diesen und der Cholangruppe sind kaum voneinander different. Es kommt auch hier zu dem bei den Cholansaponinen beschriebenen Vergiftungsablauf. Ebenso ist die Calciumwirkung dieselbe.

Aus den Versuchen ist zu ersehen, daß es bei den von uns untersuchten Saponinen hochtoxische und weniger giftige gibt. Die beiden hochtoxischen (Digitonin und Quillaya) entstammen dabei beiden Gruppen. Auch die Rhythmusstörungen finden sich am auffälligsten bei Solanin und Primulasaponin. Es ist also auch hier keine Bevorzugung einer Gruppe zu sehen.

3. Wirkung wiederholter Zufuhr von Saponinen: In diesen Versuchen gingen wir so vor, daß wir der Kanülenflüssigkeit die Hälfte der Maximaldosis zusetzten und 20 Minuten zuwarteten. Dann setzen wir die 3—4fache Menge zu. Nach jedesmaligem Zuwarten von 15—20 Minuten setzten wir eine entsprechend größere Menge des Saponins zu und gelangten schließlich zu einer vielfach letalen Dosis. Alle Versuche ergaben eine Abschwächung bzw. Aufhebung der Wirkung der mehrfachen Maximaldosis.

Diese Versuche ergeben somit, daß durch Vorbehandlung mit unterschwelligen Dosen die Empfindlichkeit sehr stark herabgesetzt wird. Es war naheliegend, daran zu denken, daß es sich dabei um das bekannte Phänomen der Tachyphylaxie handelt, wie wir es vom Hypophysenhinterlappenhormon und vom Ephedrin her kennen. In diesem Falle müßte nach einiger Zeit die normale Empfindlichkeit zurückkehren. Wir führten deshalb eine Reihe von Versuchen aus, bei denen längere Zeit (bis zu 90 Minuten) mit dem Zweitzusatz gewartet wurde. Auch bei dieser Versuchsanordnung blieb die herabgesetzte Empfindlichkeit erhalten. Es dürfte sich also nicht um das obenerwähnte Phänomen handeln. Wurde das Herz mit dem Saponin der einen Gruppe behandelt und nach einiger Zeit ein Saponin der anderen Gruppe zugesetzt, so war dabei dieselbe Abschwächung der Wirkung zu sehen. Damit ergibt sich ein prinzipieller Unterschied zu den digitalisähnlichen Körpern.

Um die Tatsache der Abnahme der Empfindlichkeit zu erklären, war zunächst die Frage zu beantworten: Ob durch den Erstzusatz die Zellmembran so verändert wird, etwa durch die Reaktion mit dem Cholesterin, daß das neuerlich zugesetzte Saponin nicht mehr in Reaktion treten kann. Zu diesem Zweck wurden folgende Versuche unternommen. Es wurde dem Herz eine unterschwellige Saponindosis zugesetzt und einige Zeit, so wie in den früher beschriebenen Versuchen, zugewartet. Nun wurde eine vielfach größere Dosis zugesetzt. Wurde diese jetzt reaktionslos vertragen, so wurde der Kanüleninhalt auf ein zweites Herz übertragen. Wäre die Reaktionslosigkeit auf ein Fehlen der Bindung des Saponins zurückzuführen, so hätte beim zweiten Herz eine maximale Saponinwirkung eintreten müssen. Die auf diese Weise durchgeführten Versuche ergaben, daß das Saponin von der Zelle aufgenommen wird, ohne toxisch zu wirken. Um zu sehen, ob im Herz nun wirklich gespeichertes und nicht an Cholesterin gebundenes Saponin zu finden ist, gingen wir folgendermaßen vor: Wir wuschen das Herz sorgfältig mit saponinfreier Ringerlösung aus, verrieben es mit Quarzsand und extrahierten den Brei mit 2 ccm Ringerlösung. 1 ccm des Extraktes wurde dann dem unvorbehandelten Herz zugesetzt. Wie der unten beschriebene Versuch zeigt, tritt sofort eine beträchtliche Saponinwirkung ein.

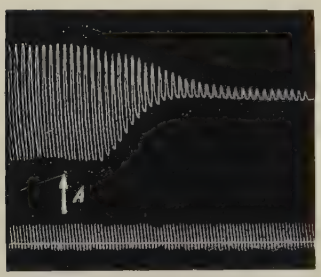


Abb. 4. *A*: Filtrat eines vorbehandelten Herzens zugesetzt.

Es ergibt sich somit, daß der Herzmuskel wohl das Saponin rasch aufnimmt, das resorbierte Saponin wird jedoch nicht durch Cholesterin neutralisiert. Den naheliegenden Vergleich mit einem Potentialgift, z. B. dem Muskarin, durchzuführen, scheitert daran, daß auch nach jedesmaligem Auswaschen des Ventrikels die einschleichende Wirkung zu erzielen ist.

Nach Kobert wird die Saponinwirkung als Ausdruck einer chemischen Bindung mit dem Cholesterin des Zellplasmas aufgefaßt. Dadurch wird der Eintritt ins Zellinnere für andere Substanzen erleichtert. Durch gewisse Kolloide (Phosphatide) könne die Wirkung quantitativ beeinflußt werden.

Bei Versuchen, bei denen wir zugleich mit dem Saponin 30—50 mg Lezithin zusetzten, konnte bei allen Saponinen eine Steigerung der Wirkung erzielt werden. Es traten z. B. auch bei sonst nicht in dieser Richtung wirkenden Saponinen Arrhythmien auf. Bei gleichzeitigem Zusatz von Lezithin und Saponin konnte auch keine Abnahme der Wirkung durch Vorbehandlung mit unterschwelligen Dosen erzielt werden.

Zusammenfassung.

Es wurde die Wirkung chemisch sehr differenter Saponine (Saponine der Cholan- und Triterpengruppe) auf das isolierte Froschherz nach Straub

untersucht. Es ergab sich dabei, daß die Wirkung auf das Herz, abgesehen von der verschiedenen Giftigkeit der geprüften Saponine, gleichartig ist. Man kann somit von einer Herzwirkung der Saponine schlechtweg sprechen.

Setzt man dem mit Saponin vergifteten Herz Calcium zu, so wird vorübergehend die Kammerautomatie wieder geweckt. Es treten dabei eigentümliche Gruppenbildungen auf.

Durch Vorbehandlung mit unterschwelligen Dosen wird die Wirkung auf das Herz sehr stark herabgesetzt. Versuche, die zum Studium dieser Erscheinung angestellt wurden, ergaben: a) Das zweitzugesetzte Saponin wird vom Herz resorbiert. Die auf ein normales Herz übertragene Kanülenflüssigkeit erweist sich als giftfrei. b) Die Extraktionsflüssigkeit des Herzens erweist sich als giftig. c) Bei gleichzeitigem Zusatz von Saponin und Lezithin ergab sich keine Abschwächung der Wirkung bei einschleichender Dosierung. d) Bei allen 6 untersuchten Saponinen fand sich im Gegensatz zur Digitaliswirkung eine Neutralisation durch Cholesterin, eine Wirkung auch in calciumfreier Nährlösung und die Erscheinung herabgesetzter Empfindlichkeit bei einschleichendem Zusatz.

Literatur.

Kobert: Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen, Stuttgart 1904, Handbuch f. exper. Pharmakologie. — Kofler: Die Saponine. — Gottdenker u. Rothberger: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 185 (1937). — Trendelenburg: Ebenda **61**, 256 (1909). — Weizsäcker: Ebenda **81**, 247 (1917).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck.

Die Wirkung der Mistel auf den Lungenkreislauf.

Von

A. Amann, A. Jarisch und H. Richter.

Mit 3 Textabbildungen (8 Einzelbildern).

(Eingegangen am 27. März 1941.)

Gaultier[1] bemerkte, daß die Lunge bei der Mistelvergiftung oft blutarm und hell wird; nach dem Tode findet man den linken Ventrikel und den linken Vorhof leer, während das rechte Herz in allen Teilen stark überdehnt ist und beim Anschneiden Blut unter Druck entleert[2]; der Druck in der A. pulmonalis steigt nach der Injektion von Mistelextrakten an[2]; spritzt man den herzwirksamen Stoff der Mistel in eine A. pulmonalis ein, nachdem man sie herzwärts abgeklemmt hat, dann ziehen sich die Lungengefäße bis zum völligen Verschluß zusammen[3].

Diese Beobachtungen lehren, daß die Mistel eine verengernde Wirkung auf die Lungengefäße besitzt und daraus ergeben sich zwei Fragen: 1. Kann die reflektorisch den Herzschlag verlangsamende und den Blutdruck senkende Wirkung der Mistel (Bezold-Effekt[4]) die Folge der Drucksteigerung in der Pulmonalis sein und ist sie also vielleicht nur ein „Lungenentlastungsreflex" im Sinne von Schwiegk[5]? Es war zwar gezeigt worden, daß die Entnervung der Lunge die Mistelwirkung nicht beeinflußt, doch bestand noch die Möglichkeit, daß die in Frage kommenden Pressoreceptoren im intrapericardialen Abschnitt der Pulmonalis sitzen, wo Takino[6] und Watanabe[7,8] sensible Endigungen in der Gefäßwand nachweisen konnten. – 2. Wie wirkt sich die Pulmonalsperre auf das Herz und den Ablauf der Mistelvergiftung aus?

Methodik. Die Versuche wurden an Katzen in Chloralosenarkose (0,05 g/kg Chloralose mit 0,25 g/kg Urethan intramuskulär) und an Kaninchen in Morphin-Urethan-Narkose (0,6 g/kg Urethan und 0,003 g/kg Morphin subcutan) angestellt. Registrierung des arteriellen Druckes aus der rechten Carotis und des Pulmonalisdruckes entweder aus dem linken Hauptstamme oder aus der Arterie des linken Oberlappens, beides mit Hg-Manometer. Messung des Venen- und Vorhofdruckes mit einem Wassermanometer mit mm-Einteilung, das durch Luftübertragung mit einem Schlayerschen Piston verbunden war.

---

[1] Gaultier, R.: Arch. internat. Pharmacodynam. **20**, 96 (1910). — [2] Ebster, H., u. A. Jarisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **145**, 297 (1929); Ebster, H.: Ebenda **145**, 312 (1929). — [3] Richter, H., u. A. Amann: Ebenda **196**, 274 (1940). — [4] Jarisch, A.: Arch. Kreisl.forsch. **7**, 260 (1940). — [5] Schwiegk, H.: Pflügers Arch. **236**, 206 (1935). — [6] Takino, M.: Acta Scholae med. Kyoto **15**, 321 (1933). — [7] Watanabe, S.: Fol. endocrin. jap. **14**, 37 (1938). — [8] Takino, M., u. S. Watanabe: Arch. Kreisl.forsch. **2**, 18 (1938).

1.

Die Versuche lehrten, daß die nach der Injektion des Herzstoffes der Mistel eintretende reflektorische Blutdrucksenkung mit Bradykardie von der Drucksteigerung in der Pulmonalis völlig unabhängig ist und daher kein „Lungenentlastungsreflex" sein kann. Dies ergab sich aus folgendem:

a) Die Erhöhung des Pulmonalisdruckes nach der Mistelinjektion tritt regelmäßig und schon nach geringen Mengen ein; sie schwankt jedoch in ihrem Ausmaße von Tier zu Tier zwischen wenigen und mehreren Hundert Prozent und es besteht dabei kein Verhältnis zur reflektorischen Kreislaufhemmung; eine ganz geringfügige Zunahme des Pulmonalisdruckes kann mit einem sehr kräftigen Bezold-Effekt einhergehen.

b) Sobald die Drucksenkung im großen Kreislauf einsetzt, beginnt auch der Pulmonalisdruck zu fallen, unter Umständen bis auf die Hälfte des Ausgangswertes; wäre der Bezold-Effekt ein Lungenentlastungsreflex, dann dürfte er den Pulmonalisdruck nur normalisieren, aber nicht herabsetzen. Außerdem beginnt der Pulmonalisdruck oft minutenlang vor dem Einsetzen des Bezold-Effektes anzusteigen.

c) Der Bezold-Effekt wird nicht beeinflußt, wenn man den Pulmonalisdruck künstlich absenkt. Dies kann auf folgende Weise geschehen: man bindet die Kanüle zur Registrierung des Pulmonalisdruckes in die Arterie des linken Oberlappens ein und verschließt den weiterziehenden Hauptstamm der Pulmonalis mit einer Drahtklemme; auf diese Weise erreicht man, daß bei der Injektion des Mistelstoffes nur die rechte Lunge vergiftet wird und daher nur in dieser der Strömungswiderstand steigt und daß, wenn man später die Drahtklemme entfernt, der kleine Kreislauf durch die unverändert gebliebene linke Lunge kurzgeschlossen wird und der Pulmonalisdruck wieder fällt. Die Abb. 1 zeigt einen derartigen Versuch, bei dem der Pulmonalisdruck bei ausgeschalteter linker Lunge von 18 auf 36 mm Hg anstieg. Nachdem ein kräftiger Bezold-Effekt eingetreten war, wurde der Pulmonalisdruck beim ↓ durch Entfernen der Klemme abgesenkt und dies hatte nun keinen Einfluß auf den arteriellen Druck und die Pulsfrequenz; erst nach der Kälteblockierung des Vagus bei *K* steigen beide in typischer Weise an. Im weiteren Verlaufe des Versuches wurde der Vagus dreimal durch Erwärmen für je 20, 10 und 5 Sekunden eingeschaltet und das hatte die charakteristische Drucksenkung mit Bradykardie zur Folge. Dieser Versuch lehrt somit, daß der Bezold-Effekt nicht durch den Druck in der Pulmonalis bestimmt wird und daß dieser die Druckschwankungen im großen Kreislauf mitmacht.

Wenn man den Bezold-Effekt durch Injektion von Veratrin auslöst, erhält man Kurven, die völlig den Folgen der Vaguseinschaltung im zweiten Teile der Abb. 1 entsprechen. Dieses Verhalten des Pulmonalisdruckes hat ein Gegenstück in der Angabe von Tournade und Malmejac[9], daß er absinkt, wenn man den Innendruck im Carotissinus erhöht.

[9] Tournade, A., u. J. Malmejac: C. r. Soc. Biol. **109**, 1128 (1932).

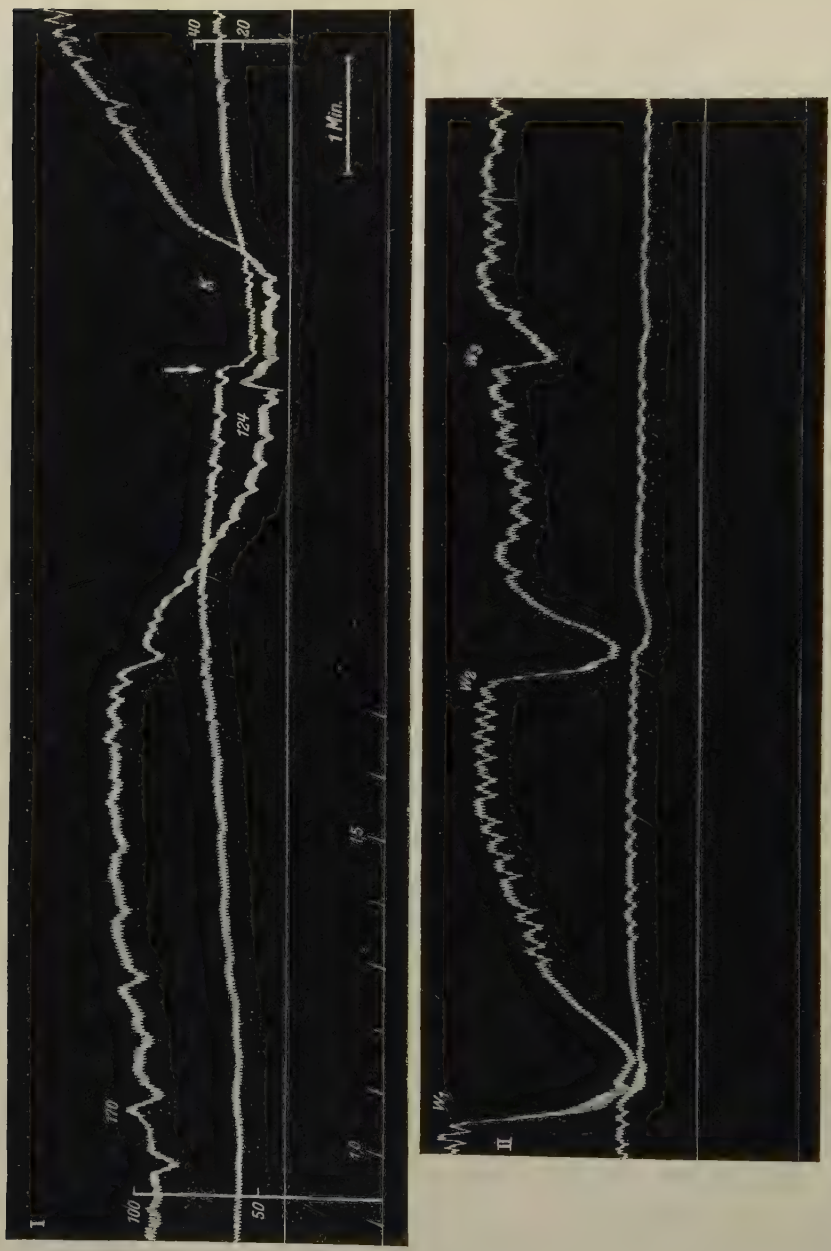


Abb. 1. Katze, 3400 g, in Chloralosenarkose, linke Pulmonalis zunächst mit einer Drahtklemme verschlossen. Von oben nach unten: Carotisdruck (die Ziffern bedeuten Pulsfrequenzen), Druck in der Arterie des linken Oberlappens, Abszisse des Pulmonalisdruckes, Abszisse des Carotisdruckes (die Ziffern bedeuten Mengen des nach Winterfeld isolierten Herzstoffes der Mistel in mg). — Beim ▼ Absenken des Pulmonalisdruckes durch Entfernen der Klemme an der linken Pulmonalis, bei *K* Kühlung der beiden Halsvagi. — II ist die unmittelbare Fortsetzung von I; bei W_1, W_2 und W_3 werden die Vagi für 20, 10 und 5 Sekunden erwärmt.

2.

Für das Herz bedeutet die Steigerung des Pulmonalisdruckes eine Mehrarbeit der rechten Kammer; sie wird im Anfang anstandslos be-

wältigt, denn der Venendruck bleibt zunächst unverändert oder steigt nur um wenige Millimeter Wasser und man sieht bei der Beobachtung des freigelegten Herzens die Pulmonalis, namentlich in der Nähe des Klappenringes buckelartig vorspringen. So kommt es zu einer kompensierten Hypertonie im Bereiche der Lungenschlagader. Später versagt aber der rechte Ventrikel, wobei die myocardschädigende Wirkung der Mistel mithilft und dann steigt der Venendruck und es fällt der arterielle Druck, weil der Zufluß zum linken Herzen abnimmt; dies folgt im besonderen daraus, daß dann auch der Druck im linken Vorhof zu sinken beginnt.

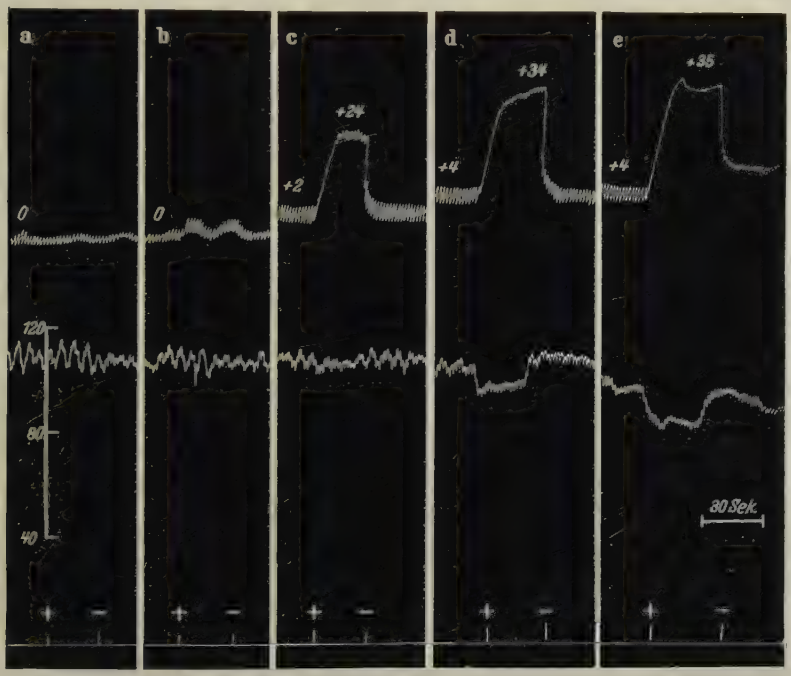


Abb. 2. Kaninchen, 2500 g, in Morphin-Urethannarkose, Vagi durchschnitten. Oben Druck in der V. cava superior (die Ziffern bedeuten Abweichungen vom Ausgangswerte in mm Wasser); unten Carotisdruck. — + Verschließen und — Öffnen des Hauptstammes der linken A. pulmonalis mit einer Fadenschlinge. Zwischen *a* und *b* wurden bei verschlossener linker Pulmonalis zehnmal 0,1 mg des nach Winterfeld isolierten Herzstoffes der Mistel injiziert. Zwischen *b*, *c*, *d* und *e* je 5 Minuten.

Der folgende Versuch läßt diese Zusammenhänge erkennen. Bei einem Kaninchen werden die Vagi durchschnitten, um die reflektorischen Wirkungen auszuschalten und es wird die linke Pulmonalis mit einer Fadenschlinge verschlossen. Dann wird der Mistelherzstoff injiziert und eine Minute später wird die Schlinge an der linken Pulmonalis gelöst, damit das Blut wieder durch die linke Lunge laufen kann. Da der Mistelstoff in den Organen rasch gebunden wird und die Vergiftung langsam fortschreitet, entwickelt sich in der vergifteten rechten Lunge allmählich der

Gefäßkrampf und wenn man dann zeitweilig die linke Pulmonalis verschließt und das Blut zwingt, durch die vergiftete rechte Lunge zu laufen, dann kann man den Einfluß der Pulmonalsperre auf den großen Kreislauf beobachten. Im Versuch der Abb. 2 war die Abklemmung der Pulmonalis im unvergifteten Zustande (*a*) ohne jede Wirkung; 2 Minuten nach der Injektion von 10 mal 0,1 mg des Mistelherzstoffes in Abständen von 30 Sekunden bewirkte der Verschluß der Pulmonalis ein eben merkliches Ansteigen des Venendruckes (*b*); 5 Minuten später (*c*) steigt der Venendruck um 20 mm und nach weiteren 5 Minuten (*d*) um 30 mm und dazu fällt auch schon der arterielle Druck, weil der Widerstand in der vergifteten rechten Lunge für das rechte Herz zu groß geworden ist und die linke Kammer zu wenig Blut bekommt. – Bei den Blutdrucksenkungen im späteren Stadium der Mistelwirkung spielt also auch der Krampf der Lungengefäße eine Rolle.

Nach all dem muß die Pulmonalsperre für die toxische Wirkung der Mistel von großer Bedeutung sein, doch läßt sich nicht allgemein gültig angeben, in welchem Umfange, weil sie mit der Myocardschädigung, den Arrhythmien und anderen Einflüssen in wechselndem Ausmaße zusammenwirkt. Zweifellos hängt die folgende Erscheinung mit der Pulmonalsperre zusammen: wenn man bei durchschnittenem Vagus vergiftet, dann bleibt der arterielle Druck sehr oft bis zum Ende hoch oder steigt sogar noch an, um dann plötzlich steil abzustürzen [2, 10]; da in diesem Augenblick der Druck in der Vena cava senkrecht in die Höhe geht, während der Druck im linken Vorhofe zunächst unverändert bleibt oder sogar absinkt, muß ein schlagartiges Versagen des rechten Herzens vorliegen. Offenbar bleibt in diesen Fällen der Kreislauf gut, solange die rechte Kammer den hohen Druck in der Pulmonalis noch zu überwinden vermag und es tritt die Katastrophe ein, sobald die Kammer erlahmt, überdehnt wird und die Klappen nicht mehr schließen.

Dieser Mechanismus bedingt mit auch den charakteristischen Befund am Herzen der Tiere, die akut der Mistelvergiftung erliegen: das linke Herz ist leer und der linke Ventrikel steht in Kontraktur (oft sieht man die Kontraktur erst einige Minuten nach dem Tode eintreten), während das rechte Herz so stark überdehnt ist, daß es oft die Spitze des linken Ventrikels überragt (Cor pulmonale)[2, 10]. Daß dies eine Auswirkung der Pulmonalsperre ist, ergibt sich aus folgendem Versuche: wenn man eine tödliche Menge des Mistelstoffes bei abgeklemmter linker Pulmonalarterie injiziert und diese noch vor dem Tode freigibt, damit der Widerstand im kleinen Kreislauf sinkt, dann tritt der geschilderte Zustand nicht ein und das Herz ist in allen vier Abschnitten erweitert. Diese Beobachtung läßt uns bezweifeln, ob die bei der Mistelvergiftung des Warmblüters so oft beschriebene Kontraktur wirklich eine toxische Kontraktur wie beim

[10] Jarisch, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 266 (1941).

isolierten Herzen ist oder ob es sich nicht vielmehr um eine rasch einsetzende Totenstarre des linken Ventrikels handelt, wie sie auch beim Verblutungstode vorkommt.

Besprechung der Ergebnisse.

Der Herzstoff der Mistel ist doch ein höchst interessanter Stoff. Er gestattet bei geeigneter Dosierung nicht nur den Bezold-Effekt für Stunden zu aktivieren, sondern ermöglicht es auch für längere Zeit, eine isolierte Drucksteigerung im kleinen Kreislauf, ähnlich wie bei der Pulmonalishypertonie der Pathologen[19] zu erzeugen, was mit keinem anderen die Pulmonalgefäße verengernden Stoffe zu erreichen ist. Diese verengernde

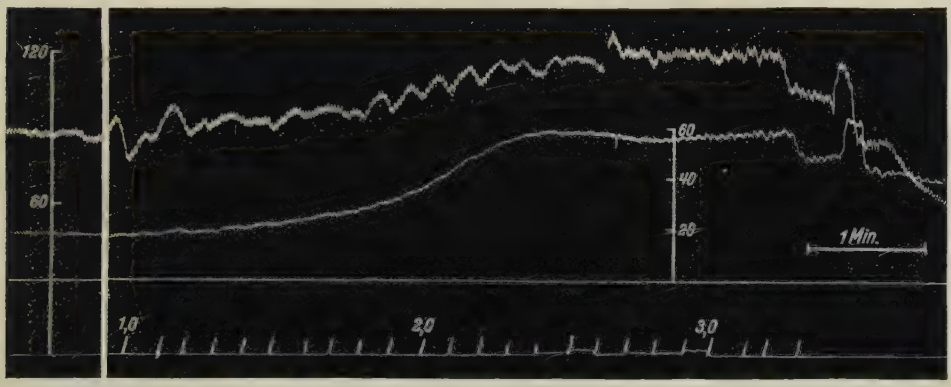


Abb. 3. Katze, 2900 g, in Chloralosenarkose. Von oben nach unten: Carotisdruck, Druck im Hauptstamme der linken A. pulmonalis, Abszisse des Pulmonalisdruckes, Abszisse des Carotisdruckes (die Ziffern bedeuten Mengen des nach Winterfeld isolierten Herzstoffes der Mistel in mg).

Wirkung der Mistel beschränkt sich aber nicht auf die Lungengefäße, sondern ist auch an den Gefäßen des großen Kreislaufes, besonders bei der intraarteriellen Injektion nachzuweisen[2].

Einer eingehenderen Besprechung bedarf noch der Lungenentlastungsreflex, denn bei Steigerungen des Pulmonaldruckes, wie auf der Abb. 3 eine zu sehen ist, fragt man sich doch, wo denn der Lungenentlastungsreflex geblieben sei.

Der Gedanke, daß von der Pulmonalis drucksenkende Reflexe, wie von der Aorta und dem Carotissinus ausgehen könnten, wurde zuerst von Brunelli[11] geäußert, doch sind seine Versuche kaum beweiskräftig. Einwandfreie Beobachtungen brachten erst die Untersuchungen von Schwiegk[5] am Hunde. Sie konnten aber in der Folge nur in beschränktem Umfange bestätigt werden; Henze[12] hatte an der Katze und dem Kaninchen negative Ergebnisse; Schweitzer[13] sah die Erscheinung bei 12 Katzen nur zweimal; Hochrein und Schneyer[14] kamen

[11] Brunelli, B.: Arch. Farmacol. sper. **56**, 557 (1933). — [12] Henze, C.: Arch. internat. Pharmacodynam. **53**, 44 (1936). — [13] Schweitzer, A.: Die Irradiation autonomer Reflexe. Basel 1937, S. 206. — [14] Hochrein, N., u. K. Schneyer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 265 (1937).

für den Hund zu dem Schlusse, daß der Reflex zwar bestünde, daß man aber nicht von einer allgemein gültigen Gesetzmäßigkeit sprechen könne; Daly, Ludány, Todd und Verney[15] erhielten am Hunde positive Befunde, fanden den Reflex aber viel schwächer als in den Versuchen von Schwiegk, was immerhin mit ihren sehr eingreifenden Versuchsbedingungen zusammenhängen konnte; diese Autoren verlegen auch die Rezeptoren nicht in den Gefäßbaum der A. pulmonalis, sondern in die Lungenvenen und sind geneigt, in dem Reflexe eine Schutzeinrichtung gegen verminderte Tätigkeit des linken Ventrikels und nicht gegen vermehrte des rechten zu sehen. — In diesem Zusammenhange ist noch zu erwähnen, daß Gerhardt[16] am Hunde bei Embolisierungsversuchen Drucksteigerungen in der Pulmonalis beobachtete, die sogar mit Drucksteigerungen im großen Kreislaufe einhergingen. Auch in den Kaninchenversuchen von Bürger[17] müßte man die Anzeichen eines Lungenentlastungsreflexes erwarten, da das Aufblasen der Lunge den Druck in der Pulmonalis nach den Feststellungen von Wagner[18] erhöht.

Bei dieser Sachlage wiederholten wir die Versuche von Schwiegk an der Katze und änderten die Technik etwas ab, um jede Schädigung der Nerven und Receptoren möglichst zu vermeiden. Wir banden die Kanüle des Druckgefäßes in die Arterie des linken Oberlappens ein und verschlossen die linke A. pulmonalis innerhalb des Herzbeutels neben dem Ligamentum Botalli. Auf diese Weise blieb der ganze Lungenhilus unberührt und die Lungennerven konnten durch die Operation nicht in Mitleidenschaft gezogen werden. In einer anderen Versuchsreihe banden wir die Lungengefäße nicht ab, sondern legten Schlingen herum, die nur zum Druckversuch angezogen wurden; so war erreicht worden, daß die linke Lunge normal durchströmt blieb und nur während der Drucksteigerungsperiode aus dem Kreislauf ausgeschaltet wurde. Trotz dieser Vorkehrungen zur Schonung der Receptoren und der Lungennerven waren aber sämtliche Versuche vollständig negativ. Man wird daher wohl annehmen müssen, daß es bei der Katze einen Lungenentlastungsreflex nicht gibt oder daß seine Bedingungen zum mindesten recht komplexer Natur sind.

Zusammenfassung.

Der Herzstoff der Mistel bewirkt eine Kontraktion der Lungengefäße und ruft bei entsprechender Dosierung eine anhaltende isolierte Drucksteigerung in der Lungenschlagader hervor.

Die Erhöhung des Pulmonalisdruckes löst keine drucksenkenden Reflexe im großen Kreislauf aus und auch bei künstlicher Drucksteigerung in der Pulmonalis wurden bei der Katze die Anzeichen eines Lungenentlastungsreflexes vermißt.

Der Bezold-Effekt kommt unabhängig von der Drucksteigerung in der Pulmonalis zustande.

Die Pulmonalsperre spielt eine wichtige Rolle bei der toxischen Wirkung der Mistel.

[15] Daly, I. de Burgh, G. Ludány, A. Todd u. E. B. Verney: Quart. J. exper. Physiol. **27**, 123 (1937). — [16] Gerhardt, D.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **82**, 122 (1918). — [17] Bürger, M.: Klin. Wschr. **1926**, S. 777. — [18] Wagner, R.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **13**, 7 (1940). — [19] Dietrich, K.: Ebenda **5**, 121 (1932).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. S. Janssen.)

Verträglichkeit und Ausscheidungsverhältnisse von Dicarbonsäuren.

Von

Alfred Enders.

(Eingegangen am 9. April 1941.)

Nach Versuchen von Verkade und seinen Mitarbeitern (1) werden die Fettsäuren im Organismus außer durch β-Oxydation auch durch ω-Oxydation abgebaut. Die Endprodukte dieser ω-Oxydation erscheinen im Urin als Dicarbonsäuren. So findet sich nach Verfütterung des Triglycerides Tricaprin im Harn Sebazinsäure und Adipinsäure, nach Verabreichung von Triundecylin sind im Urin Pimelin- und Azelainsäure nachzuweisen (2). Diese im Harn erscheinenden Dicarbonsäuren sind, vorwiegend von physiologisch-chemischer Seite, der Ausgangspunkt zahlreicher, neuer Untersuchungen. Dabei wurden — unter anderen — Adipinsäure, Azelainsäure und Sebazinsäure meist in Form ihrer wasserlöslichen Natriumsalze an Menschen oder an Hunde in Mengen bis zu 20 g pro Tag verfüttert (4—7). Der gesamte Harn wurde während der Verfütterungsperiode gesammelt und quantitativ auf die verfütterten Disäuren und ihre Abbauprodukte untersucht. Im Harn konnten 30—75 % der verabreichten Dicarbonsäuren wieder nachgewiesen werden. Bei subcutaner Injektion änderte sich die Ausscheidung nicht wesentlich (8, 9, 10). Mori (10) injizierte bei Kaninchen subcutan Adipinsäure als Natriumsalz — bis zu 2,0 g — und fand etwa 50 % der Adipinsäure im Urin wieder. Verkade und Mitarbeiter (11) konnten als erste durch subcutane Injektion äquimolarer Mengen von Adipin- und Sebazinsäure die Ausscheidungsverhältnisse zweier Dicarbonsäuren einwandfrei vergleichen.

Emmrich und Höhne (12) verfütterten an menschlichen Versuchspersonen von Tag zu Tag steigende Mengen von Azelainsäure — 0,5 bis 10 g — und bestimmten fortlaufend den ätherlöslichen Rest im 24-Stunden-Urin. Von jeder Dosis wurde derselbe Prozentsatz, nämlich durchschnittlich etwa 68 %, ausgeschieden. Bei dieser Versuchsanordnung war es allerdings nicht zu vermeiden, daß sich der Teil der Ausscheidungsmenge, der erfahrungsgemäß erst in der 25.—48. Stunde nach einer Verfütterung ausgeschieden wird, zu der Ausscheidungsmenge, die zu der am folgenden Tage verfütterten Dosis gehört, addiert. [Siehe Tabelle von Emmrich und Höhne (12)]. Bei Versuchen mit Sebazinsäure fanden im Gegensatz dazu Flaschenträger und Bernhard (4), daß prozentual um so weniger ausgeschieden wird, je geringer die zugeführten Mengen sind. Im all-

gemeinen scheinen die Dicarbonsäuren mit höherer Kohlenstoffzahl leichter verbrannt zu werden [Verkade (6, 11); Emmrich (13)].

Die Resorption der Dicarbonsäuren — z. B. von Azelainsäure — ist vollständig (7). Auch bei Durchfall finden sich keine Dicarbonsäuren im Kot (13).

In der Arbeit von Emmrich und Emmrich-Glaser (13) wird auch zur Frage der Retention der Dicarbonsäuren Stellung genommen. Diese Forscher verfütterten täglich 0,5 g Tetradekandicarbonsäure 8 Tage lang an zwei erwachsene Ratten und verseiften anschließend die Tierkörper. Retinierte Dicarbonsäuren waren in diesen nicht nachzuweisen.

Rose sowie Harding und Nicholson (14) fanden nach Verabreichung von Glutarsäure eine tubuläre Nephritis. Fodera (15) — zit. nach Fränkel (15) — untersuchte vergleichend niedere Fettsäuren und die entsprechenden Dicarbonsäuren. Er schrieb dem Eintritt der zweiten Carboxylgruppe eine Herabsetzung der Toxizität zu. Verkade und Mitarbeiter (11) sahen nach subcutaner Injektion von Disäuren lokale Ödeme auftreten.

Im ganzen folgt aus den bisherigen Arbeiten eine geringe Giftigkeit der Dicarbonsäuren, die mehr als fünf Kohlenstoffatome besitzen, wurden doch teilweise recht erhebliche Dosen verwandt; z. B. verfütterten Emmrich und Höhne (12) 10 g Sebazinsäure pro Tag. Trotzdem gewann die Frage der Toxizität der Dicarbonsäuren erneutes Interesse, da nach Verfütterung synthetisch hergestellter Fette eine Vermehrung der Dicarbonsäureausscheidung nicht ausgeschlossen ist. Diese synthetisch hergestellten Fette bestehen aus Glyceriden der Fettsäuren gerader und ungerader Kohlenstoffzahl. Auf der anderen Seite warnt Verkade (3) vor Ölen und Fetten, die bei Verfütterung eine starke Diacidurie verursachen.

Wir stellten uns daher die Aufgabe, die Toxizität einzelner ausgewählter Dicarbonsäuren festzustellen und ihre Kumulation zu prüfen. Da sich im Verlauf der Versuche ergab, daß die untersuchten Säuren nur geringe spezifische Wirkungen aufwiesen, wurden außerdem ihre Ausscheidungsverhältnisse und ihre Retention im Tierkörper untersucht.

Methodik.

Als Versuchstiere wählten wir Kaninchen und Ratten. Bei diesen Versuchstieren wurden die zu untersuchenden Substanzen durch Applikation mit der Schlundsonde genau dosiert. Wir vermieden dadurch den Nachteil, daß bei Vermengung in die Nahrung die zu verabreichenden Lösungen mit den Futterresten verschleudert wurden. Aus denselben Gründen sahen wir von Versuchen mit Hunden ab, da diese leicht das Futter, welches ungewohnte Bestandteile enthält, ganz ablehnen und außerdem, besonders nach Schlundsondierung, zu Erbrechen neigen. Ferner war es bei Kaninchen leichter möglich, die relativ großen Lösungsmengen — bis zu 100 ccm — zu Vergleichszwecken intravenös zu spritzen. Von einer sub-

cutanen Injektion sahen wir von vornherein ab, da diese sich wegen der lokalen Reizwirkung der von uns verwendeten hohen Dosen nicht empfahl. Bei den langfristigen Versuchen bot die Verwendung von Ratten den Vorteil, mit geringen Substanzmengen auszukommen sowie die Untersuchung des Tierkörpers auf retinierte Dicarbonsäure einfacher zu gestalten, als dies bei größeren Tieren möglich gewesen wäre.

Die Kost der Tiere wurde während der Versuchszeit völlig konstant gehalten. Die Kaninchen erhielten Gras oder weiße Rüben. Die Ratten erhielten ein aus 60% Maismehl, 30% Trockenmilch, 8% Trockenhefe und 2% Lebertran zusammengesetztes Brot. Diesem Brot wurde außerdem Kochsalz zugesetzt, um ein reichliches Trinken und damit eine möglichst große Urinmenge zu erzielen. Wir erreichten dadurch, daß der Fehler durch unvollständige Entleerung der Blase am Schluß einer 24stündigen Sammelperiode so gering als möglich wurde, da der Harn auf diese Art bezüglich der ausgeschiedenen Dicarbonsäuren weniger konzentriert war.

Die von uns zur Verfütterung ausgewählten Säuren sind Adipinsäure, Azelainsäure und Sebazinsäure. Adipinsäure hat die Formel $COOH-(CH_2)_4-COOH$. Sie findet Verwendung bei der Herstellung von Backpulver und Limonade als Ersatz von Weinsäure bzw. Zitronensäure, sowie bei der Produktion der Kunstfaser „Nylonseide" (16). Azelainsäure hat die Formel $COOH-(CH_2)_7-COOH$, Sebazinsäure entspricht der Formel $COOH-(CH_2)_8-COOH$. Wir haben also eine kurzgliedrige Disäure von gerader Kohlenstoffzahl gewählt und zwei Dicarbonsäuren mittlerer Länge der Kohlenstoffkette, davon eine mit ungerader und eine mit gerader Kohlenstoffzahl. Von der Einbeziehung von Dicarbonsäuren noch längerer Kohlenstoffketten wurde angesichts deren guter Verbrennbarkeit (13) abgesehen.

Die chemische Bestimmung dieser Dicarbonsäuren im Urin erfolgt nach der von Emmrich und Höhne angegebenen Methode (12). Ihr Prinzip besteht in folgendem: 50 ccm Harn werden angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt, eine Stunde mit doppelt normaler Natronlauge gekocht und danach wieder angesäuert und einer Wasserdampfdestillation unterworfen. Dadurch werden erst sämtliche ätherlöslichen Substanzen aufgenommen, die Hippursäure zerstört, und die flüchtigen Säuren entfernt. Dann wird der Rückstand zur Entfernung der Fettsäuren mit Petroläther und dann mit Äther ausgeschüttelt. Der Äther wird abgedunstet, der Rückstand in Wasser gelöst und titriert.

Vor Beginn einer Verfütterung wurde stets der Durchschnitt des ätherlöslichen Restes des 24-Stunden-Urins an mindestens 4 Tagen einer normalen Vorperiode bestimmt. Die Berechnung der ausgeschiedenen Mengen nach der Verfütterung erfolgte entsprechend dem Vorgehen von Emmrich und Höhne (12), indem wir den so gewonnenen Durchschnitt von dem Titrationswert des Versuchstages subtrahierten und die Differenz mit dem Äquivalentgewicht der betreffenden Säuren multiplizierten. Der

Fehler, daß Abbauprodukte der verfütterten Dicarbonsäuren sich zu den wirklichen Werten addierten, wurde in Kauf genommen.

Um die nach Verfütterung der Dicarbonsäuren erhöhten Titrationswerte im Urin sicher in Gewichtsmengen ausgeschiedener Dicarbonsäuren umrechnen zu können, stellten wir folgende Vorversuche an. Wir bestimmten den Leerwert ätherlöslicher Säuren eines normalen Urins und danach im selben Urin den Wert des ätherlöslichen Restes nach vorheriger Zugabe von 30, 90 und 150 mg der Dicarbonsäuren. Die so erhaltenen Titrationswerte wurden in mg der entsprechenden Säure umgerechnet (siehe oben) und zu den abgewogenen und hinzugefügten Mengen in Beziehung gesetzt. Es wurden z. B. von 90 mg Sebazinsäure regelmäßig 81 mg wieder aufgefunden. Auf diese Art wurden Umrechnungsfaktoren erhalten, die für Adipinsäure $^4/_3$, für Azelainsäure $^{20}/_{19}$ und für Sebazinsäure $^{10}/_9$ betrugen. Drei Beispiele stehen in Tabelle 1.

Tabelle 1.

	Gefundener Wert mg	Wirklicher Wert (durch Multiplikation mit dem entsprechenden Faktor erhalten) mg
Adipinsäure	171	228
Azelainsäure	171	180
Sebazinsäure	171	190

(Die Gramm- und Prozentwerte der folgenden Tabellen sind stets die umgerechneten Mittelwerte einer Doppelbestimmung.)

Bei der Untersuchung des Harns nach Verfütterung von Dicarbonsäuren wurde darauf geachtet, daß die Disäuremengen, die in den zur chemischen Bestimmung verwandten Einzelportionen des Harns zu erwarten waren, sich in den obigen Größenordnungen hielten. Dies wurde durch Verwendung von mehr oder weniger Spülwasser erreicht.

Wir verwandten nach Verkade (11) bei der Dosierung stets äquivalente Mengen, um die drei Dicarbonsäuren, die wir ausgewählt hatten, einwandfrei vergleichen zu können. So gaben wir z. B. bei einer Tiergruppe 2,43 g Adipinsäure, bei der zweiten 3,14 g Azelainsäure, bei der dritten 3,37 g Sebazinsäure pro kg, d. h. in jedem Falle $^1/_{30}$ des Äquivalentgewichtes pro kg. (Äquivalentgewichte: Adipinsäure: 73 g, Azelainsäure: 94 g und Sebazinsäure: 101 g.)

Die Dicarbonsäuren wurden als Reinsubstanzen von der Firma Schuchardt bezogen und in Natriumcarbonatlösung gelöst. Näheres über die Lösungsverhältnisse ist aus Tabelle 2 zu ersehen. Die bei den Kaninchen verwendeten Lösungen waren sauer. Da unsere Ratten einen sauren Harn aufwiesen, wurden die Dicarbonsäurelösungen bei Verfütterung an Ratten völlig neutralisiert, um einem Ausfallen der ausgeschiedenen

Säuren im Urin vorzubeugen. Kontrollen zeigten jedoch, daß dies nicht nötig gewesen wäre. Bei Verwendung saurer Dicarbonsäurelösungen in Verfütterungsversuchen an Ratten wurden dieselben Ausscheidungsmengen gefunden.

Tabelle 2. Verwendete Dicarbonsäurelösungen.

	Versuche an Kaninchen		Versuche an Ratten	
	Konzentration %	Anteil der neutralisierten Disäuren in %	Konzentration %	Anteil der neutralisierten Disäuren in %
Adipinsäure	20	75	20	100
Azelainsäure	13	75	14	100
Sebazinsäure	13	75	14	100

Da Azelainsäure- und Sebazinsäurelösungen dieser Konzentration (Tabelle 2) bei Zimmertemperatur ausfallen, wurden sie vor der Verabreichung stets auf 40° erwärmt.

Toxizität.

Die letalen Dosen bei einmaliger oraler Darreichung liegen beim Kaninchen bei allen drei Dicarbonsäuren zwischen $^1/_{30}$ und $^2/_{30}$ Äquivalentgewicht pro kg Tier. Erstere Dosis, d. h. 2,43 g Adipinsäure, 3,14 g Azelainsäure oder 3,37 g Sebazinsäure pro kg Kaninchen war in allen drei Fällen nicht letal. Bei der Verfütterung von Azelainsäure und Sebazinsäure zeigten sich dabei keine Nebenerscheinungen. Adipinsäureverabreichung per os bewirkte leichtes Unwohlsein der Tiere: die Kaninchen sitzen teilnahmslos im Käfig, fressen wenig und haben einen aufgetriebenen Bauch. Bei Beklopfen des Abdomens hört man ein deutliches Gluckern. Die Tiere leiden an mehr oder weniger starken Durchfällen. Schon nach 24 Stunden sind alle diese Erscheinungen weitgehend abgeklungen. Verdoppelt man die Adipinsäuredosis auf 4,86 g pro kg Kaninchen, dann sterben die Tiere 10—30 Stunden nach der Verfütterung. Bei der Obduktion sieht man, daß der ganze Darm gebläht und mit Massen brauner Flüssigkeit angefüllt ist. Bei der mikroskopischen Untersuchung von Leber und Niere ließen sich an diesen Organen ausgeprägte venöse Stauungserscheinungen nachweisen.

Das ganze Vergiftungsbild weist auf eine Resorptionshemmung hin, auf einen Übertritt von Flüssigkeit in den Verdauungskanal, wie sie dem Mechanismus der Abführmittel aus der Bittersalzreihe zugrunde liegt.

Nach Verabreichung der entsprechenden Mengen Azelain- und Sebazinsäure — 6,28 und 6,74 g pro kg Kaninchen, d. h. $^2/_{30}$ des Äquivalentgewichtes — finden sich diese Erscheinungen nicht. Auch hier tritt allerdings der Tod der Versuchstiere etwa 12—18 Stunden nach der Verfütterung ein, jedoch ist das Vergiftungsbild ein völlig anderes. Die Tiere nehmen bald nach der Verfütterung Seitenlage ein, einige zeigen klonische Krämpfe, Zittern der Extremitäten und Nystagmus. Bei der Obduktion

findet sich am Magen-Darmkanal kein pathologischer Befund. Diese Vergiftungserscheinungen weisen auf eine zentral-nervöse Schädigung hin.

Gibt man die Dicarbonsäuren nicht per os, sondern intravenös, dann wird $^1/_{30}$ des Äquivalentgewichtes der Adipinsäure pro kg Kaninchen ohne Nebenerscheinungen überstanden. Es zeigt sich nur eine Polyurie, bei der die Tiere oft bis 20% ihres Gewichtes innerhalb 8 Stunden verlieren. Infusion von Azelain- und Sebazinsäure führt zum Tode der Versuchstiere, meistens noch während der Infusion, sobald etwa $^1/_{45}$ des Äquivalentgewichtes injiziert ist. Dabei zeigt sich ein Atemstillstand, während das Herz noch weiter schlägt. Auch dieses weist auf eine Schädigung des Zentralnervensystems hin.

Da die oral und intravenös zugeführten Flüssigkeitsmengen relativ groß waren – im Falle der Sebazinsäure bis über 84 ccm – wurden zur Kontrolle 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung oral und intravenös gegeben, ohne daß sich schädigende Wirkungen gezeigt hätten.

Der Einfluß längerer Darreichungen wurde an jungen und an erwachsenen Ratten untersucht. Als Dosis wählten wir die größte Menge, die man unter Berücksichtigung der Lösungsmenge mit der Schlundsonde geben kann, ohne rein mechanische Einwirkungen fürchten zu müssen. Diese Dosis war etwa $^1/_{30}$ Äquivalentgewicht jeder Dicarbonsäure pro kg Ratte. Die verfütterten Mengen in g gehen aus Tabelle 3 hervor. Die verwendeten Flüssigkeitsmengen bewegen sich zwischen 1,25 und 2,50 ccm pro Ratte und Tag. Der Versuch wurde 4 Wochen lang durchgeführt. Die Kontrollen erhielten während dieser Zeit eine gleiche Menge Wasser. Bei den jungen Ratten wurde kein Einfluß auf die Gewichtszunahme gegenüber den Kontrolltieren beobachtet (siehe Tabelle 3). Auch im sonstigen Verhalten ließ sich kein Unterschied feststellen.

Tabelle 3. Gewichtszunahme junger Ratten bei Verfütterung von Dicarbonsäuren.

Gruppe I Verfütterung von Adipinsäure 0,243 g/Tier/Tag			Gruppe II Verfütterung von Azelainsäure 0,314 g/Tier/Tag			Gruppe III Verfütterung von Sebazinsäure 0,337 g/Tier/Tag			Gruppe IV Kontrollen: Verfütterung von Wasser 2,0 ccm/Tier/Tag		
Nr.	1. Tag	27. Tag	Nr.	1. Tag	27. Tag	Nr.	1. Tag	27. Tag	Nr.	1. Tag	27. Tag
1	75	110	1	65	105	1	70	110	1	65	100
2	75	105	2	60	105	2	75	125	2	80	120
3	60	100	3	80	110	3	75	120	3	70	105
4	80	115	4	70	105	3	70	105	4	70	110
5	70	100	5	70	110	5	60	90	5	75	110

Durchschnittliche Gewichtszunahmen:

Gruppe I: 34 g | Gruppe II: 38 g | Gruppe III: 40 g | Gruppe IV: 37 g

Da selbst junge, noch wachsende Tiere durch die Verfütterung von Dicarbonsäuren nicht geschädigt worden waren, begnügten wir uns bei den

Versuchen mit erwachsenen Ratten mit nur je 3 Tieren im Gewicht von etwa 300 g für jede der 3 Dicarbonsäuren. Auch dieser Versuch wurde 4 Wochen lang durchgeführt. Die Dosierung war so wie bei den Wachstumsversuchen: die erste Gruppe von 3 Ratten erhielt 0,73 g Adipinsäure pro Tier und Tag, die anderen beiden Gruppen erhielten 0,94 g Azelainsäure bzw. 1,01 g Sebazinsäure pro Tier und Tag in 5—7 ccm Wasser mit der Schlundsonde verabreicht.

Das Gewicht dieser erwachsenen Ratten blieb während der ganzen Zeit konstant, die Tiere sahen bis zum Schluß des Versuches gesund aus. Ihr allgemeines Verhalten unterschied sich in nichts von dem normaler Ratten. Am Schluß der Verfütterungsperiode wurden die Ratten getötet und der Reststickstoffgehalt des Blutes bestimmt. Er war bei allen Ratten normal und bewegte sich zwischen 20 und 40 mg%. Funktionelle Nierenstörungen fehlten, entsprechend den von Rose u. a. (14) erhobenen Befunden, im Gegensatz zu den nach Glutarsäureverabreichung beobachteten Erscheinungen.

Ausscheidungsverhältnisse.

Zur Ergänzung der bisher beschriebenen Toxizitätsversuche untersuchten wir die Ausscheidung der Dicarbonsäuren.

In weiteren kurzfristigen Versuchen verfütterten wir an Kaninchen an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je $^1/_{30}$ Äquivalentgewicht der betreffenden Dicarbonsäure, d. h. 2,43 g Adipinsäure, 3,14 g Azelainsäure und 3,37 g Sebazinsäure pro kg Tier. Wir wählten also möglichst große, noch verträgliche Mengen, die nach den vorhergegangenen Toxizitäts-

Tabelle 4. Verfütterung von Adipinsäure. Kaninchen Nr. 3. 2,5 kg.

Versuchstag	Adipinsäure-zufuhr in g	Ätherlöslicher Rest im Harn (in Milliäquivalent)	Ausgeschiedene Adipinsäure	
			in g	in % der verfütterten Einzeldosis
1	0	9,20	0	0
2	0	10,40	0	0
3	0	10,31	0	0
4	0	8,69	0	0
5	0	9,85	0	0
6	0	9,93	0	0
7	6,08	20,00	1,00	16
8	6,08	38,72	2,82	46
9	0	30,74	2,05	34
10	0	16,00	0,61	10
11	0	9,61	0	0
12	0	10,04	0	0

Normaler Durchschnitt des ätherlöslichen Restes im Harn während des 1. bis 6. Tages: 9,73 Milliäquivalent.

Im ganzen wurden 6,48 g Adipinsäure (67 Milliäquivalent), d. h. 53% der gesamten zugeführten Menge wieder ausgeschieden.

versuchen für die Versuchstiere noch nicht tödlich waren. Wir bestimmten einzeln für jeden Tag den ätherlöslichen Rest des Urins, und zwar in einer normalen Vorperiode von 5–6 Tagen, an den 2 Tagen der Verfütterung sowie an den der letzten Verfütterung folgenden 4 Tagen. Tabelle 4 zeigt den Verlauf eines solchen Versuchs mit Adipinsäure.

Je 4 solcher Versuche wurden mit Adipinsäure, Azelainsäure und Sebazinsäure ausgeführt. Die dabei verfütterten und wieder ausgeschiedenen Mengen in g sind aus Tabelle 5 zu ersehen.

Tabelle 5. Verfütterte und wieder ausgeschiedene Dicarbonsäuremengen im kurzfristigen Versuch.

Kaninchen		Säure	Dosis 2 mal in g	Ausscheidung in g			
Nr.	Gewicht in kg			1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag
3	2,5	Adipinsäure	6,08	1,00	2,82	2,05	0,61
4	2,3		5,59	0,84	2,53	2,28	0,35
5	2,2		5,35	1,09	3,03	1,44	0,68
6	2,0		4,86	1,45	3,39	1,09	0,00
9	1,9	Azelainsäure	5,96	3,70	3,55	1,17	0,00
10	1,9		5,96	3,88	3,99	1,19	0,00
11	2,2		6,90	4,72	4,56	1,25	0,00
12	2,1		6,58	4,08	4,14	1,45	0,00
13	2,0	Sebazinsäure	6,74	3,98	5,70	0,20	0,00
14	2,1		7,07	4,03	5,66	0,14	0,00
15	2,4		8,08	4,78	7,04	0,50	0,00
16	2,1		7,07	4,13	5,54	0,21	0,00

Tabelle 6 gibt eine Übersicht der erhaltenen Resultate; hier sind die in je 24 Stunden ausgeschiedenen Mengen in Prozent der verfütterten einzelnen Tagesdosen aufgeführt. Ferner sind die Durchschnitte der Tages- und Gesamtausscheidungsmengen in % berechnet.

Tabelle 6. Ausscheidung von Dicarbonsäuren im kurzfristigen Versuch.
(Ausscheidung in % der verfütterten Einzeldosis.)

Versuch	Adipinsäure				Azelainsäure				Sebazinsäure			
Nr.	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag
1	16	46	34	10	62	60	20	0	59	85	3	0
2	15	45	41	6	65	67	20	0	57	80	2	0
3	20	57	27	13	68	66	18	0	59	87	6	0
4	30	70	22	0	62	63	22	0	58	78	3	0
Durchschnitt:	20	55	31	7	64	64	20	0	58	83	4	0

Durchschnittlich ausgeschiedene Gesamtmenge in % der zugeführten Gesamtdosis:

Adipinsäure	Azelainsäure	Sebazinsäure
57	74	72

In Tabelle 5 und 6 ist als 1. Tag jeweils der Tag gerechnet, an dem zum ersten Male eine Verfütterung stattfindet. Bei allen drei Dicarbonsäuren ist nach zweitägiger Zufuhr am 5. Versuchstag die Ausscheidung beendet. Die Gesamtausscheidung bewegt sich zwischen 50 und 80% der zugeführten Mengen, also in den auch von anderen Untersuchern gefundenen Grenzen. Weiter führte die Betrachtung der Ausscheidung an den einzelnen Tagen während und nach der Verfütterung.

Dabei erwies sich, daß Azelainsäure bereits am 1. Tage zu etwa 64% ausgeschieden wurde, daß ihre Ausscheidung auch am 2. Tage der Verfütterung nicht weiter ansteigt und daß sie nach der letzten Verabreichung der Säure innerhalb 48 Stunden beendet ist. Dagegen erreicht die Adipinsäureausscheidung ihr Maximum erst am 2. Tage der Verfütterung, d. h. dann, wenn sich die Wirkung der 2. Zufuhr zu der der 1. Verfütterung addiert. Sie beträgt dann 55% gegenüber 20% des 1. Versuchstages. Außerdem ist sie meist erst mit dem 3. Tage nach der letzten Verfütterung beendet. Die Sebazinsäure nimmt eine Mittelstellung ein. Wie bei der Azelainsäure beträgt ihre Ausscheidung am 1. Versuchstag beinahe 60% der verfütterten Einzeldosis, auch ist ihre Ausscheidung bereits am 3. Tage nach der letzten Verfütterung auf 0 gesunken. Dagegen steigt, wie bei der Adipinsäure, die Ausscheidung am 2. Tage noch an.

Die Ursache der besonders verzögerten Ausscheidung der Adipinsäure ist wohl in der langsamen Resorption dieses Stoffes zu suchen, die wir ja auch an dem abnormen Flüssigkeitsgehalt des Darmes nach der Verfütterung beobachtet hatten. Daß dies abweichende Verhalten der Adipinsäure tatsächlich auf verzögerter Resorption und nicht auf verzögerter Ausscheidung beruht, konnten wir nachweisen, indem wir dieselbe Menge Adipinsäure in zwei Versuchen intravenös spritzten. Wir verwendeten dabei Kaninchen, bei denen die Ausscheidung dieser Dicarbonsäure nach Verfütterung bereits untersucht worden war. Bei intravenöser Injektion wurde bereits am 1. Tage 59% bei dem einen, 71% bei dem anderen Kaninchen ausgeschieden. (Die Prozentzahlen verstehen sich auch hier wieder als Prozent der verabreichten Einzeldosis.) Ferner war die Ausscheidung bereits in den ersten 24 Stunden nach der zweiten Verabreichung beendet. — Die Gesamtausscheidungsmenge nach intravenöser Injektion von Adipinsäure lag nur wenig über der bei oraler Verabreichung.

In einem Falle überlebte das Kaninchen nach oraler Verabreichung der letalen Dosis von $^2/_{30}$ Äquivalentgewicht, d. h. 4,86 g Adipinsäure pro kg Tier, noch die ersten 24 Stunden nach der Verfütterung. Im Urin wurden während dieser Zeit 2,05 g Adipinsäure ausgeschieden. Aus dem Ergebnis der intravenösen Injektion dieses Stoffes folgt, daß von der wirklich in die Blutbahn gelangten Menge etwa $^2/_3$ ausgeschieden wird. Da in diesem Falle nach unserer üblichen Berechnung 2,05 g ausgeschieden waren, müssen also etwa 3 g resorbiert worden sein, das sind nur 21%, der in diesem Falle eingeführten Menge von 14,1 g Adipinsäure. Aus den Versuchen

mit intravenöser Infusion folgt aber ferner, daß sogar mehr als 3 g der in die Blutbahn gelangten Adipinsäure keine schädigende Wirkung besitzen. Somit ergibt sich aus dieser Betrachtung der Ausscheidungsverhältnisse eine Bestätigung der oben von uns geäußerten Ansicht, daß der Tod der mit Adipinsäure per os vergifteten Kaninchen keine Folge der in den Körper, d. h. der in den Stoffwechsel gelangten Substanz ist, sondern auf die im Darm zurückgebliebene Menge Adipinsäure zurückzuführen ist, die ihrerseits das Wasser aus dem Körper an sich zieht.

Nach der Injektion in die Ohrvenen entzündeten sich jeweils die Ohren und nekrotisierten oft teilweise. Dies ist jedoch unspezifisch und auf die starke Konzentration der eingespritzten Lösungen zurückzuführen.

Das Verhalten der Dicarbonsäureausscheidung bei längerer Verabreichung wurde an Ratten untersucht. Der allgemeine Verlauf des Versuchs ist bereits oben geschildert worden. Je zwei erwachsene Ratten von 300 g Gewicht wurden 4 Wochen lang täglich mit Adipinsäure, Azelainsäure und Sebazinsäure gefüttert. Die Ratten erhielten $^1/_{100}$ Äquivalentgewicht der betreffenden Säure pro Tier. Während der 4 Wochen wurde der Dicarbonsäuregehalt im Harn in der ersten Woche 4mal, in den folgenden zwei Wochen je 3mal, in der letzten Woche wieder 4mal bestimmt, außerdem noch an 4 Tagen einer normalen Vorperiode und an den zwei der letzten Verfütterung folgenden Tagen. Der Harn wurde für jede Ratte getrennt während 24 Stunden gesammelt, mit Spülwasser auf 250 ccm aufgefüllt und von dieser Menge 50 ccm wie üblich auf Dicarbonsäuregehalt untersucht. In Tabelle 7 stehen für jede Ratte die Werte des ätherlöslichen Restes in Milliäquivalent in der normalen Vorperiode von 4 Tagen, danach — vom 5.—32. Versuchstag — die Werte während der Verfütterung und zum Schluß die Werte der ersten beiden Tage, an denen die Tiere nichts mehr verfüttert erhielten. Die letzten zwei Zeilen zeigen Durchschnittswerte der in 24 Stunden ausgeschiedenen Dicarbonsäure in g und %.

Bei Betrachtung der Tabelle 7 fällt zuerst auf, daß bei Ratten nach der oralen Verabreichung von Adipinsäure sofort am 1. Tage derselbe hohe Prozentsatz Adipinsäure ausgeschieden wird, wie bei den anderen beiden Dicarbonsäuren. Auch steigen die Milliäquivalentwerte des ätherlöslichen Restes im Harn am 2. Tage der Verfütterung bei keiner der drei Dicarbonsäuren weiter an. Außerdem ist bei jeder der drei Dicarbonsäuren die Ausscheidung bereits in den ersten 24 Stunden nach der letzten Verfütterung beendet. All dies steht im Gegensatz zu den Befunden beim Kaninchen. Von Anfang bis Ende des vierwöchentlichen Versuches bleibt die Ausscheidung sowohl bei Adipin- wie auch bei Azelain- und Sebazinsäureverfütterung im Rahmen der natürlichen und der durch die Versuchstechnik bedingten Streuung konstant. Die täglich ausgeschiedenen Mengen schwanken nur zwischen 60 und 70%. Dieses Verhalten spricht gegen eine Schädigung des Rattenorganismus durch die von uns verfütterten Dicarbonsäuren und steht in Übereinstimmung mit dem im Abschnitt

Tabelle 7. Ausscheidung von Dicarbonsäuren bei 4 Wochen langer Verfütterung an Ratten.

(Ausscheidung in Milliäquivalent.)

Versuchstag	Ratte 1 und 2: Verfütterung von 0,73 g Adipinsäure pro Tier		Ratte 3 und 4: Verfütterung von 0,94 g Azelainsäure pro Tier		Ratte 5 und 6: Verfütterung von 1,01 g Sebazinsäure pro Tier	
1	0,51	0,34	0,46	0,48	0,48	0,58
2	0,39	0,39	0,38	0,45	0,51	0,47
3	0,47	0,28	0,36	0,55	0,52	0,45
4	0,43	0,33	0,48	0,38	0,49	0,60
5	5,28	5,18	6,90	6,60	5,80	6,22
6	5,27	5,36	6,44	6,67	5,72	6,11
7	5,41	5,40	6,42	6,82	6,00	6,05
8	5,33	5,35	6,37	6,81	6,05	6,08
12	5,73	5,62	6,47	6,98	5,82	6,18
13	5,61	5,68	6,53	6,72	6,17	6,41
14	5,75	5,54	6,37	6,74	6,07	6,51
19	5,65	5,26	6,91	7,19	6,18	6,35
22	5,34	5,37	6,86	7,22	6,03	6,28
23	5,77	5,19	6,96	6,99	6,02	6,42
26	5,61	5,56	6,92	6,95	6,14	6,54
29	5,54	5,32	6,81	7,13	6,18	6,52
31	5,41	5,51	6,56	6,67	6,01	6,04
32	5,55	5,37	6,91	6,87	5,89	6,25
33	0,48	0,32	0,45	0,44	0,48	0,56
34	0,42	0,38	0,40	0,55	0,52	0,46
Durchschnittswerte der normalen Vorperiode:						
	0,45	0,34	0,42	0,47	0,50	0,53
Durchschnittswerte während der Verfütterung:						
	5,50	5,41	6,67	6,88	6,01	6,27
Durchschnittswerte der Ausscheidung in g während der Verfütterung:						
	0,49	0,49	0,62	0,63	0,62	0,64
Durchschnittswerte der Ausscheidung in % der pro Tag verfütterten Dosis:						
	67	67	66	67	61	64

über Toxizität geschilderten Ergebnissen. Insbesondere findet sich keine Kumulation und keine längere Ausscheidung nach der letzten Verfütterung.

Die nicht ausgeschiedenen 30 % der gesamten verfütterten Dicarbonsäuremengen können entweder verbrannt oder gespeichert worden sein. Letztere Möglichkeit besaß von vornherein wenig Wahrscheinlichkeit, denn man hätte dann erwarten müssen, daß die gespeicherten Dicarbonsäuren nach Absetzen der Zufuhr doch noch zur Ausscheidung gekommen wären. Trotzdem haben wir aber dieser Frage einer eventuellen Retention zusätzliche Untersuchungen gewidmet.

Retention.

Wir untersuchten Körper von Ratten, die nach Beendigung der Wachstumsversuche, 72 Stunden nach der letzten Dicarbonsäure-Verfütterung, getötet worden waren. Ebenso wurde mit den erwachsenen Ratten verfahren, die 4 Wochen lang mit Dicarbonsäure gefüttert worden waren. In beiden Fällen wurden die Tiere erst dann getötet, als die Dicarbonsäureausscheidung in den Harn bereits beendet war.

Die getöteten Ratten wurden in toto mit einer Fleischmaschine zerkleinert und der so erhaltene Brei eine Stunde mit der 10fachen Menge 98%igem Alkohol gekocht. Die entstandene Flüssigkeit enthielt etwa 10% Wasser und vermochte Dicarbonsäuren sowohl als freie Säuren wie als Salze bei 70° in genügender Menge zu lösen. Im Falle einer Retention hätten die nicht gebundenen Säuren in diese Flüssigkeit übergehen müssen. Der wässerige Alkohol wurde angesäuert und der Alkohol durch Vakuumdestillation entfernt. Der wässerige Rückstand wurde zuerst mit Petroläther ausgeschüttelt. Hierdurch wurde das durch den Alkohol extrahierte Fett entfernt und nach Abdunsten des Petroläthers isoliert gewonnen. Die wässerige Flüssigkeit wurde danach wie Urin behandelt und in üblicher Weise ihr ätherlöslicher Rückstand bestimmt. Um die Annahme auszuschließen, daß die Disäuren im Falle einer Retention in die Fettmoleküle eingebaut seien, wurde das gesondert gewonnene Fett mit alkoholischer Kalilauge verseift und die erhaltene Seifenlösung angesäuert. Durch Ausschütteln mit Petroläther wurden zuerst die Fettsäuren entfernt. Danach wurde mit Äther ausgeschüttelt, der Äther abgedunstet und der Rückstand wie üblich titriert.

In Vorversuchen wurden auf diese Art normale, unvorbehandelte Ratten untersucht und der durchschnittliche Wert des ätherlöslichen Restes ihres Körpers bestimmt. Dieser Wert, aus den Einzelwerten von 8 Ratten gewonnen, betrug 0,16 Milliäquivalent pro 100 g Ratte. Ferner wurden normalen Ratten intraperitoneal jede der drei Dicarbonsäuren als Salze und als Säuren gespritzt, die Tiere anschließend getötet und der ätherlösliche Rest ihres Körpers bestimmt. Auf diese Art konnten z. B. von 100 mg eingespritzter Adipinsäure durchschnittlich $^2/_3$ wiedergewonnen werden. Der Wert des ätherlöslichen Restes war deutlich gestiegen und es war damit bewiesen, daß unsere Methode imstande war, retinierte, in Körper gelöste Dicarbonsäuren nachzuweisen.

Die Untersuchung des Fettes normaler Ratten ergab, daß bei seiner Spaltung, wie nicht anders zu erwarten, keine Dicarbonsäuren auftreten. Die Titrierung des Rückstandes nach Abdunsten des Äthers ergab die für den von uns benutzten Äther üblichen Werte von 0,02—0,04 Milliäquivalent.

Die Werte des ätherlöslichen Restes, die bei der Verarbeitung der mit Dicarbonsäure gefütterten Ratten erhalten wurden, stimmen mit den

von normalen Ratten völlig überein. Sie betragen bei Ratten, die 4 Wochen mit Adipinsäure gefüttert wurden, 0,18 Milliäquivalent, bei den mit Azelainsäure gefütterten Tiere 0,14 Milliäquivalent und bei den mit Sebazinsäure gefütterten Tieren 0,19 Milliäquivalent gegenüber dem Normalwert von 0,16 Milliäquivalent. Jeder Wert stellt den Durchschnitt von 6 Einzelwerten dar. Die geringfügigen Abweichungen liegen im Bereich der natürlichen Streuung. Auch bei der Fettspaltung konnten in keinem Falle Disäuren nachgewiesen werden; die Titration des auf obige Weise erhaltenen Ätherrückstandes ergab die normalen Ätherwerte.

Diese Ergebnisse, die gegen eine Retention und für einen Abbau der nicht ausgeschiedenen Dicarbonsäuren sprechen, erhalten ein besonderes Gewicht, wenn man die in den 4 Versuchsgruppen verabreichten Gesamtmengen dazu in Beziehung setzt. Es wurden z. B. in den Wachstumsversuchen in 28 Tagen 6,8 g Adipinsäure, 8,8 g Azelainsäure und 9,4g Sebazinsäure pro Tier verfüttert. Davon wurden etwa 70% mit dem Urin ausgeschieden. Nimmt man eine Retention an, so hätten z. B. die mit Adipinsäure gefütterten Ratten über 2 g in ihrem Körper gespeichert haben müssen. Da es uns in den oben geschilderten Modellversuchen gelang, selbst Mengen von 50 mg im Rattenkörper gelöste Adipinsäure nachzuweisen, hätte uns eine derart große Menge keinesfalls entgehen können. Auch der Nachweis von Abbauprodukten höherer Disäuren nach deren Verfütterung (6) sowie die Versuchsergebnisse von Emmrich und Emmrich-Glaser (13) nach Verfütterung von Tetradekandicarbonsäure sprechen gegen eine Speicherung von verfütterten Dicarbonsäuren.

Diskussion der Versuchsergebnisse.

Alle drei untersuchten Dicarbonsäuren sind sehr wenig giftig. Rechnet man die letale Kaninchendosis auf den Menschen um, so ergibt sich, daß erst Mengen von über 250 g bei einer normalen Versuchsperson tödlich wirken würden. Eine Kumulation ist nur bei der Adipinsäure und da auch nur beim Kaninchen festzustellen. Die schädliche Wirkung beruht bei dieser Substanz auf ihrer langsamen Resorption und den dadurch bedingten Erscheinungen im Darm, also nicht auf resorptiver Wirkung. Da die Geschwindigkeit der Ausscheidung schneller ist, als die der Resorption aus dem Darm, ist es wenig wahrscheinlich, daß überhaupt resorptive Wirkungen auftreten.

Azelain- und Sebazinsäure führen beim Kaninchen in sehr hohen Dosen zu Krämpfen. Weiterhin ist auffällig, daß Ratten die beim Kaninchen beobachteten Kumulationserscheinungen nach Adipinsäureverfütterung nicht zeigen.

Eine Retention der verfütterten und nicht wieder ausgeschiedenen Dicarbonsäuren findet nicht statt, denn die von uns verfütterten Dicarbonsäuren waren in ungebundener Form nicht nachzuweisen. Es bliebe aller-

dings noch die Möglichkeit einer irreversiblen Ablagerung an Eiweiß- oder Knochensubstanz. Dies ist aber unwahrscheinlich.

Zusammenfassung.

1. Die Toxizität von Adipinsäure, Azelainsäure und Sebazinsäure wurde durch Feststellung der einmaligen letalen Dosis am Kaninchen und der Wirkung mehrwöchentlicher Verfütterung an der Ratte bestimmt. Es zeigte sich, daß diese Dicarbonsäuren eine sehr geringe Giftwirkung besitzen.

2. Während dieser Verfütterung wurde die Ausscheidung der Dicarbonsäuren untersucht. Bei Kaninchen wurde Adipinsäure langsam, Sebazin- und Azelainsäure schneller ausgeschieden. Dies beruht auf verschieden schneller Resorption aus dem Darm. Die Ratte scheidet alle drei Säuren gleich schnell aus.

3. Nach intravenöser Injektion am Kaninchen ist die Ausscheidungsgeschwindigkeit der Adipinsäure wie die der anderen beiden Säuren.

4. Bei der Untersuchung der Körper von Ratten, die 4 Wochen lang mit hohen Dosen Dicarbonsäuren gefüttert worden waren. konnten keine Dicarbonsäuren wieder aufgefunden werden. Daraus ist zu schließen, daß der nicht in den Harn ausgeschiedene Rest im Stoffwechsel verbrannt wird.

Literatur.

1) Verkade, P. E., u. J. van der Lee: Hoppe-Seylers Z. **215**, 225 (1933). — 2) Verkade, P. E., u. J. van der Lee: Ebenda **227**, 213, 1934. — 3) Verkade, P. E., u. J. van der Lee: Ebenda **225**, 230 (1934). — 4) Flaschenträger, B., u. K. Bernhard: Ebenda **238**, 221 (1936). — 5) Bernhard, K., u. M. Andrae: Ebenda **245**, 103 (1937). — 6) Verkade, P. E., J. van der Lee u. A. J. van Alphen: Ebenda **237**, 186 (1935); **250**, 47 (1937). — 7) Smith, G.: J. biol. Chem. (Am.) **103**, 531 (1933). — 8) Flaschenträger, B.: Hoppe-Seylers Z. **159**, 297 (1926). — 9) Baer u. Blum: Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. **11**, 101 (1908). — 10) Mori: J. biol. Chem. (Am.) **35**, 341 (1918). — 11) Verkade, P. E., J. van der Lee u. A. J. van Alphen: Hoppe-Seylers Z. **252**, 163 (1938). — 12) Emmrich, R., u. E. Höhne: Ber. d. mathemat.-physikal. Kl. d. sächsischen Akademie zu Leipzig, XCII, 15. I. 1940. — 13) Emmrich, R., u. J. Emmrich-Glaser: Hoppe-Seylers Z. **266**, 183 (1940). — 14) Rose: Chem. Zbl. **1924**, S. 2410: **1925**, S. 669: Harding, V., u. T. F. Nicholson: Ber. Physiol. usw. **64**, 599 (1932). — 15) Fränkel: Arzneimittelsynthese, S. 102. Berlin, Verlag Jul. Springer, 1919; Fodera: Arch. d. Farmacol. **1894**, S. 417. — 16) Karrer, P.: Lehrbuch der organischen Chemie, S. 295. Leipzig, G. Thieme, 1940.

Aus dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Prof. Dr. O. Eichler.)

Untersuchungen über die Beeinflussung von Harnmenge, Harnchlor, Harnkalium und Harnnatrium durch Injektion von Wasser oder Coffein bei variiertem Chlorgehalt der Nahrung.

Von

Hubert Vollmer und Freymuth Rischer.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 11. April 1941.)

Vorangegangene Untersuchungen haben gezeigt[1], daß einmalige subcutane Injektionen von Coffein Wirkungen über mehrere Tage entfalten, die nur durch extrarenale Faktoren erklärbar sind. Die Bedeutung extrarenaler Faktoren wurde auch durch jahreszeitliche Unterschiede der Wirkung [1] und vor allem bei Bearbeitung der Verhältnisse bei der Coffeingewöhnung veranschaulicht [2].

Eine weitere Klärung konnte von der Prüfung der Coffeinwirkung bei variierter Zufuhr einzelner Mineralstoffe mit der Nahrung erwartet werden. Dementsprechend wurde in den nachstehend geschilderten Versuchen die Wirkung einmaliger Coffeingaben bei chlorreich und bei chlorarm ernährten Tieren untersucht. Die Versuche wurden im Sommer 1939 durchgeführt und stellen somit auch eine Kontrolle der früher festgestellten jahreszeitlichen Wirkungsunterschiede dar. Außerdem wurde wie in den früheren Arbeiten die Wirkung der Injektion an sich durch Versuche mit destilliertem Wasser geprüft.

Methodik.

Ausführliche Beschreibung bei Vollmer [1].

Diät. Es wurde dieselbe Grunddiät gegeben wie in den vorangegangenen Untersuchungen; variiert wurde lediglich der Chlorgehalt. Da der Chlorgehalt des Futters bei der chlorreichen Diät etwas erhöht, bei der chlorarmen Diät beträchtlich vermindert werden sollte, wurde im ersteren Falle ein Teil des Kaliumphosphats durch Kaliumchlorid, im zweiten der größte Teil des Kochsalzes durch Natriumbicarbonat ersetzt. Entsprechend dem hohen Phosphatgehalt der Diät spielt die Phosphatverminderung keine Rolle. Da in den vorangegangenen Untersuchungen die größeren Tiere zum Teil 25% mehr Futter, also auch mehr Chlor erhalten hatten, liegt die Chlormenge bei chlorreicher Diät im Bereiche der Chlorzufuhr der älteren Versuche.

---

[1] Vollmer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 551 (1940). — [2] Vollmer, H., u. G. Richter: Ebenda **194**, 573 (1940).

Die tägliche Chlorzufuhr betrug bei den chlorreich ernährten Ratten 30 mg; bei den chlorarm ernährten 9 mg, wobei jeweils ein Teil des Chlors aus den Grundsubstanzen der Diät stammt.

Das Futter wurde folgendermaßen hergestellt[3]: 14 g Salzgemisch (s. unten), 90 g Casein, 10 g Trockenhefe, 372 g Stärke und 10 ccm Lebertran wurden im Mörser sorgfältig gemischt. 10 g Agar-Agar wurden in 1100 ccm Wasser gerade aufgekocht und die heiße Lösung unter ständigem Umrühren dem Pulver im Mörser zugefügt. Das pastenartige Gemenge wurde zur gleichmäßigen Durchmischung 20 Minuten mit dem Pistill bearbeitet, danach 10 Minuten durchgeknetet. Die gleichmäßige Durchmischung ergab sich aus Mineralanalysen. Das fertige Futter wurde im Eisschrank aufbewahrt. Der Gehalt an Trockensubstanz betrug durchschnittlich 30%. Bei dieser Diät ist eine weitere Wasserzufuhr nicht nötig.

a) Salzgemisch für die chlorreiche Diät: 40 Teile NaCl, 50,9 Teile KCl, 28,2 Teile $MgSO_4$ (siccatum), 41 Teile Na_2HPO_4, 163,5 Teile K_2HPO_4, 223 Teile $Ca_2H_2(PO_4)_2 \cdot 4\,H_2O$, 57 Teile Calcium lacticum, 27 Teile Ferrum citricum, 69,4 Teile Saccharum lactis.

b) Salzgemisch für die chlorarme Diät: 10 Teile NaCl, 44,1 Teile $NaHCO_3$, 28,2 Teile $MgSO_4$ (siccatum), 41 Teile Na_2HPO_4, 223 Teile K_2HPO_4, 223 Teile $Ca_2H_2(PO_4)_2 \cdot 4\,H_2O$, 57 Teile Calcium lacticum, 27 Teile Ferrum citricum, 46,7 Teile Saccharum lactis.

Versuchsanordnung. Es wurden ungefähr 200 g schwere männliche Ratten verwendet, die täglich 40 g des genannten Futters erhielten. Die Tiere wurden zur Erzielung eines Gleichgewichtes etwa 8—10 Tage mit den abgewogenen Futtermengen vorgefüttert. Auf diese Anfütterungsperiode folgte eine analytisch kontrollierte Vorperiode von etwa 50 Tagen, da sich bei Versuchen mit extrem niedrigem Kaliumgehalt der Nahrung eine möglichst lange Vorfütterung als notwendig erwiesen hatte[4]. Der Vorperiode folgte dann eine Versuchsperiode mit ein- bis zweimaliger Gabe von Coffein bzw. destilliertem Wasser, wobei die Einzelversuche in größerem Abstand durchgeführt wurden. Für die Coffeininjektion wurde eine 1%ige Lösung von Coffeinum purum verwendet. Die Dosierung (2,5 und 5 mg 100 g Tier) entsprach der mittleren Dosierung in den vorangegangenen Untersuchungen. Die Tiere blieben während der Dauer der Versuche in den Versuchsgefäßen (Diuresekäfige aus Glas mit Boden aus doppeltem Drahtgeflecht). Die Käfige wurden alle 8 Tage gesäubert und der Harn des betreffenden Tages verworfen. Während der Injektion wurden die Tiere nicht aus den Käfigen entfernt.

Prinzip der chemischen Untersuchung. Die Harne wurden mit Wasser auf 50 ccm aufgefüllt. Zur Konservierung wurden dabei einige Tropfen Salpetersäure hinzugegeben. 10 ccm wurden sofort zur Chlorbestimmung nach Volhard verwendet. Zur Bestimmung von Kalium und Natrium wurden 10 ccm der Harnverdünnung in größeren Reagensgläsern aus Pyrexglas mit Salpetersäure und Perhydrol verascht. Die Natriumbestimmung wurde gravimetrisch durch Fällung als Natriumuranylzinkacetat durchgeführt. Die Bestimmung des Kaliums erfolgte titrimetrisch nach der Methode von Tisdall und Kramer, wobei das Kalium als Kaliumhexanitrokobaltiat gefällt, der Niederschlag auf der Zentrifuge gewaschen und mit Permanganat zerlegt und titriert wird. Die Faeces wurden nicht analysiert, da die Mineralausscheidung in den Faeces durch Injektion von Wasser oder Coffein nicht beeinflußt wird[1,5].

---

[3] Im wesentlichen nach Miller: J. biol. Chem. (Am.) **55**, 45 u. 61 (1923). — [4] Vollmer, H., u. G. Pietsch: noch nicht veröffentlicht. — [5] Vollmer, H., u. A. Irmer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 474 (1939).

Versuche.

In der nachstehenden Beschreibung unserer Versuche wird auf Wiedergabe des umfangreichen und wie immer nach den Gesetzen der Statistik bearbeiteten Zahlenmaterials[6] verzichtet. Statt dessen sind sämtliche Versuche in der Abb. 1 zusammengefaßt, die die durchschnittlichen

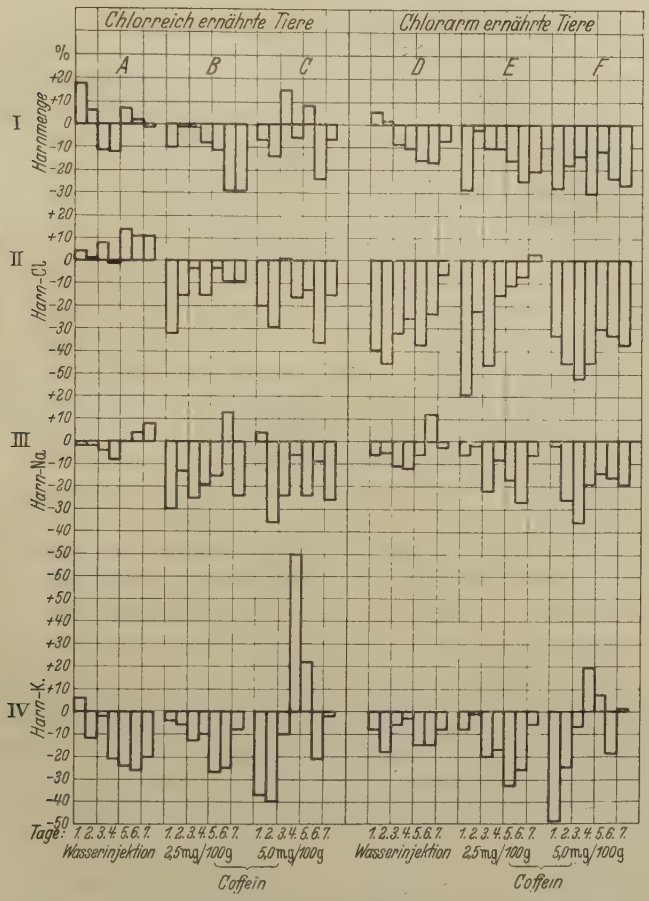


Abb. 1. Zusammenfassung sämtlicher Versuche. Änderung der ausgeschiedenen Mengen in %.
A, *B*, *C*, *F*: Durchschnitt von 5 Versuchen.
D, *E*: „ „ 10 „ .

prozentualen Änderungen für die sechs Versuchsarten enthält: Injektion von Wasser, 2,5 mg und 5 mg Coffein/100 g Tier bei chlorreich und chlorarm ernährten Tieren. Im Text wird jeweils die waagerecht mit römischen Ziffern, senkrecht mit Buchstaben gekennzeichnete Einzelkurve angegeben.

[6] Das Zahlenmaterial wird in der Dissertation F. Rischer, Breslau 1941, niedergelegt.

Die Abbildung ermöglicht einen bequemen Vergleich mit den älteren Versuchen (Abb. bei Vollmer[1]).

Bei den Wasserversuchen wurden die Ergebnisse für beide Dosen zusammengefaßt, da die Wirkung einen unspezifischen Vorgang darstellt und keine kennzeichnenden Unterschiede zwischen verschiedenen Dosen festzustellen sind.

A. Die Wirkung der Injektion von destilliertem Wasser.

Wie die vorangegangenen Untersuchungen[5] gezeigt haben, kann auch die Injektion von destilliertem Wasser eine über mehrere Tage anhaltende Änderung in der Wasser- und Mineralausscheidung verursachen. Deshalb wurden vor den eigentlichen Versuchen mit Coffein Untersuchungen über die Wirkung der Injektion an sich mit destilliertem Wasser angestellt. Es wurden dieselben Flüssigkeitsdosierungen verwendet, wie bei Versuchen mit Coffein.

Versuche an chlorreich ernährten Tieren (Abb. 1, Spalte A).

1. Die Harnmenge erfährt in den ersten beiden Tagen eine leichte Steigerung, darauf folgt am 3. und 4. Tage eine leichte Senkung, die der anfänglichen Steigerung etwa entspricht. Dann treten wieder normale Verhältnisse ein (I A).

2. Das Harnchlor zeigt am 3., 5., 6. und 7. Tage eine mäßige Steigerung (II A).

3. Das Harnnatrium bleibt im wesentlichen unverändert (III A).

4. Das Harnkalium zeigt vom 4. Tage an eine deutliche Senkung (IV A).

Auch in diesen neuen Versuchen bewirkte die Wasserinjektion langanhaltende Veränderungen. Gegenüber den älteren Wasserversuchen, die aber sämtlich in den Wintermonaten durchgeführt wurden, bestehen folgende Unterschiede. Es fehlt die Senkung des Harnchlors am 1. Tage nach der Injektion. Die Ausscheidung von Harnkalium, die in den älteren Versuchen gesteigert war, ist gesenkt. Eine Deutung der Befunde ist noch nicht möglich.

Versuche an chlorarm ernährten Tieren (Abb. 1, Spalte D).

1. Die Harnmenge nimmt vom 3. Tage an mäßig ab (I D).

2. Das Harnchlor weist vom 1. bis zum 6. Tage sehr starke Senkungen auf (II D).

3. Beim Harnnatrium ergaben sich relativ geringe Veränderungen in Form einer Senkung vom 1.—5. Tage mit einer Steigerung am 6. Tage (III D).

4. Das Harnkalium ist über mehrere Tage hinaus schwach vermindert (IV D).

Die Injektion von destilliertem Wasser bewirkte also eine Verminderung der Ausscheidung von Wasser, Kalium, Natrium und Chlor.

Vergleich beider Versuchsgruppen.

Besonders deutlich hebt sich bei den chlorarm ernährten Tieren die deutliche und anhaltende Senkung der Chlorausscheidung ab. Während in der chlorreich ernährten Versuchsgruppe überhaupt nur eine leichte Steigerung zu beobachten ist, zeigt sich hier eine sehr erhebliche Verminderung der Chlorausscheidung an sechs aufeinanderfolgenden Tagen. Dieser Befund ist auch im Hinblick auf die Deutung wichtig. Wir nehmen in Übereinstimmung mit andersartigen Befunden an, daß der Gewebsverletzung durch Injektion eine weit über den Bereich der Verletzung hinausgehende Durchtränkung des Gewebes mit Chloriden folgt. Beim normal ernährten Tier wandert dieses Chlor etwa am 2. Tage wieder ab und führt zu einer Vermehrung der Chlorausscheidung vor allem am 3. Tage. Es ist bekannt, daß bei nicht extrem chlorarm ernährten Tieren, wie den unseren, keine Hypochlorämie eintritt, dagegen der Chlorgehalt der Gewebe sinkt. Da unsere Tiere zu Beginn des Versuchs länger als 2 Monate chlorarm ernährt waren, hatten sich die Regulationsvorgänge sicherlich auf die neuen Verhältnisse eingestellt. Es ist nicht verwunderlich, daß das chlorarme Gewebe unserer Tiere das als Injektionsfolge einströmende Chlor über längere Zeit festhält und damit die langanhaltende starke Senkung der Chlorausscheidung bewirkt. Auch diese Beobachtung spricht also für eine wesentliche Rolle des Bindegewebes, das wir bei unseren Erwägungen in den Mittelpunkt stellen.

B. Die Wirkung der subcutanen Coffeininjektion.

Bei den Versuchen mit chlorreicher Diät handelt es sich lediglich um eine Bestätigung der früheren Befunde. Es wurden daher nur an 5 Tieren je ein Versuch mit 2,5 mg und mit 5 mg Coffein durchgeführt. Für die Versuche mit chlorarmer Ernährung wurden dagegen 10 Tiere verwendet, von denen 5 einen Versuch mit 2,5 mg/100 g, die anderen 5 je einen Versuch mit 2,5 mg/100 g und 5 mg/100 g durchmachten. Aus der langdauernden Vorprüfung und der Ermittlung von jeweils vier Faktoren (Harnmenge, Ausscheidung von Chlor, Kalium und Natrium) jeweils über mehrere Tage nach der Injektion ergibt sich einwandfrei verwertbares und ausreichendes Versuchsmaterial.

Versuche an chlorreich ernährten Ratten.

(Abb. 1, Spalte B und C.)

1. Harnmenge. Der Vergleich mit den Wasserversuchen (I A) ergibt wesentlich größere Ausschläge an den Tagen nach der Coffeininjektion (I B, I C). Dabei finden sich in den Versuchen mit 5 mg/100 g (I C)

wie in den Wasserversuchen nebeneinander Steigerungen und Senkungen, in den Versuchen mit 2,5 mg/100 g (I B) nur Senkungen.

2. Das Harnchlor ist bei 5 mg/100 g Coffein eindeutig gesenkt (II C), und zwar über 8 Tage mit Ausnahme des 3. Tages. Für die Versuche mit 2,5 mg/100 g (II B) gilt das gleiche, nur sind die Senkungen hier nicht so stark. Bei diesen Erscheinungen handelt es sich unbestreitbar um eine reine Coffeinwirkung, da die Wasserversuche überwiegend Steigerungen ergaben (II A).

3. Das Harnnatrium wird in beiden Dosierungen eindeutig gesenkt (III B, III C), ein Befund, der sich beim Vergleich mit der Wirkung der Injektion an sich (III A) als reine Coffeinwirkung darstellt.

4. Das Harnkalium verhält sich bei den Dosierungen 2,5 und 5,0 mg/100 g Coffein verschieden (ähnlich wie die Wasserausscheidung). Während die Dosis 5 mg/100 g zunächst eine beträchtliche Senkung über 3 Tage hervorruft, der dann starke Vermehrungen am 4. und 5. Tage folgen, finden sich bei der kleineren Dosis nur Senkungen. Unter Berücksichtigung der reinen Injektionswirkung (IV A) ergibt sich eine eindeutige Coffeinwirkung nur bei der Dosis 5 mg/100 g. Hier ist sehr ausgesprochen die Verminderung an den ersten beiden Tagen und die Mehrausscheidung am 4. und 5. Tage.

Versuche an chlorarm ernährten Ratten.

(Abb. 1, Spalte E und F.)

1. Harnmenge. Die Harnmenge ist bei beiden Dosierungen über die ganze Versuchsperiode gesenkt (I F, I E). Die Ausschläge sind zum Teil beträchtlich. Es ist zu berücksichtigen, daß auch die Einspritzung von destilliertem Wasser eine Senkung bewirkt (I D); doch beginnt diese Senkung erst am 3. Tage und ist außerdem an mehreren Versuchstagen eindeutig geringer.

2. Das Harnchlor weist bei 2,5 und 5 mg/100 g Senkungen auf (II E, II F). Vergleicht man die Werte mit denen der Wasserversuche (II D), die ebenfalls eine Senkung über längere Zeit ergaben, so findet man, daß bei 5 mg/100 g die durch Coffein bewirkte Senkung etwas länger anhält. Bei 2,5 mg/100 g ist die Senkung nur am 1.—3. Tage stärker, an den meisten Tagen dagegen wesentlich geringer als in den Wasserversuchen.

3. Das Harnnatrium wird bei beiden Dosierungen anhaltend gesenkt (III E, III F). Die Senkung ist beträchtlich stärker und dauerhafter als die geringe Senkung, die als Wirkung der Injektion an sich beobachtet wurde (III D).

4. Das Kalium weist bei 2,5 mg/100 g nur Senkungen auf (IV E), die die Senkungen bei Versuchen mit destilliertem Wasser (IV D) zum Teil übersteigen. Demgegenüber zeigt die Kaliumausscheidung bei 5 mg (IV F) in Übereinstimmung mit den an chlorreich ernährten Tieren erhobenen Befunden am 4. und 5. Tage eine Steigerung, der dann am 6. Tage wieder eine Senkung folgt.

Besprechung.

Es interessiert zunächst der Vergleich mit den älteren Befunden[1, 6]. Hinsichtlich der Wasserwirkung sind die Verhältnisse bereits erörtert. Es ergab sich bei den chlorreich ernährten Tieren wie früher eine Wirkung über mehrere Tage. Im einzelnen entsprach diese Wirkung nicht völlig den älteren Befunden. Wesentlich ist die Feststellung, daß bei den chlorarm ernährten Tieren die Verminderung des Harnchlors, aber auch der Harnmenge außerordentlich lange anhält. Dieser Befund kann dadurch erklärt werden, daß das Gewebe das als Injektionsfolge einströmende Chlor, aber auch Wasser sehr viel länger festhält als das chlorreiche Gewebe ausreichend mit Chlor ernährter Tiere.

Hinsichtlich der Coffeinwirkung können nur die früheren Sommerversuche[1] zum Vergleich herangezogen werden. Diese ergaben eine mehrtägige Harnvermehrung, eine Verminderung des Harnchlors am 1. Tage nach der Injektion mit nachfolgenden geringfügigen Schwankungen, eine starke und langanhaltende Senkung des Harnnatriums und stärkere Ausschläge der Kaliumausscheidung nach beiden Seiten. Dabei bestanden bei 5 mg/100 g eine Senkung am 1. und 5. Tage, Steigerungen am 2., 3., 4.. 6. und 7. Tage, bei 2,5 mg/100 g Senkungen am 1. und 3., Steigerungen am 4. und 5. Tage. In den Winterversuchen vermehrte das Coffein, abgesehen von Einzelschwankungen, sämtliche geprüften Ausscheidungen.

Mit diesen älteren Versuchen können natürlich nur die Versuche an unseren chlorreich ernährten Tieren verglichen werden. Auch das neue Material zeigt eine eindeutige Verminderung beim Harnnatrium, etwas gleichartiger und stärker die Verminderung beim Harnchlor. Beim Harnkalium kann die Dosis 2,5 mg/100 g in den neuen Versuchen (Vergleich mit der Injektionswirkung) als unwirksam bezeichnet werden. Dagegen sind bei 5 mg/100 g sehr charakteristisch die auch früher beobachteten starken Ausschläge nach beiden Seiten. Abweichungen von den älteren Befunden ergeben sich praktisch nur bei der Harnmenge, die in den älteren Sommerversuchen vermehrt war, hier aber vermindert ist (2,5 mg/100 g) oder nach beiden Seiten schwankt (5 mg/100 g). In den neuen Versuchen kommt durch diesen Befund der Unterschied der Sommerversuche gegenüber den Winterversuchen noch eindeutiger heraus als früher. Die Befunde ergeben eine neue Sicherung der alten Feststellung jahreszeitlicher Unterschiede der von uns geprüften langdauernden Wirkung des Coffeins auf den Mineralstoffwechsel.

Vor allem aber interessieren die Versuche an chlorarm ernährten Tieren. Hier ergibt die Betrachtung der Abb. 1, daß die über mehrere Tage anhaltende Harnverminderung stärker ist als die Verminderung im Wasserversuch, und bei 5 mg auch sehr viel deutlicher als in den Versuchen an chlorreich ernährten Tieren.

Hinsichtlich des Harnchlors liegen die Verhältnisse folgendermaßen. Die Verminderung der Chlorausscheidung ist bei der Dosis 5 mg/100 g stärker als die Verminderung durch die reine Injektion, sie ist dagegen

geringer in den Versuchen mit 2,5 mg/100 g. Die Verhältnisse sind nicht ganz einfach zu beurteilen, weil die Wasserversuche bei den chlorreich ernährten Tieren eine leichte Vermehrung der Ausscheidung, bei den chlorarm ernährten Tieren dagegen eine ausgesprochene Verminderung ergaben. Unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse ist die durch Coffein bewirkte Verminderung (Abstand zwischen Coffein und Injektionswirkung) bei den 5-mg-Versuchen für die chlorarm ernährten Tiere deutlich geringer. Für die 2,5-mg-Versuche würde sich der Schluß ergeben, daß am 4., 5. und 6. Versuchstage sogar die reine Injektionswirkung abgeschwächt wird.

Beim Harnkalium müssen die Verhältnisse für beide Dosen getrennt betrachtet werden. Es wurde festgestellt, daß bei den chlorreich ernährten Tieren praktisch kein Unterschied zwischen der Wirkung der Injektion an sich und der Wirkung von 2,5 mg/100 g Coffein besteht. In beiden Fällen war die Kaliumausscheidung über mehrere Tage vermindert. Die Verhältnisse sind bei den chlorarm ernährten Tieren ebenfalls gleichsinnig, doch ist die Senkung im Coffeinversuch hier ausgesprochener. Diese Befunde könnten also dafür sprechen, daß bei den chlorarmen Tieren auch die Einsparung des Kaliums nach Coffein überwiegt. Diese Deutung würde auch mit den Ergebnissen der 5-mg-Versuche im Einklang stehen. Hier zeigt die Ausscheidungskurve des Kaliums für die 7 Tage nach der Injektion zwar bei beiden Versuchsbedingungen eine ähnliche Form. Die Vermehrung der Kaliumausscheidung am 4. und 5. Tage ist aber bei den chlorarm ernährten Tieren sehr viel geringer (19 und 12% gegenüber 70 und 22%).

Hinsichtlich der Beeinflussung der Natriumausscheidung ergab sich kein deutlicher Unterschied der Wirkung der Wasserinjektion auf chlorreich und chlorarm ernährte Tiere. Die Verminderung der Natriumausscheidung ist bei beiden Tiergruppen und bei beiden Coffeindosen sehr viel deutlicher als in den Wasserversuchen. Dagegen sind Wirkungsunterschiede zwischen den chlorreichen und chlorarmen Tieren nicht festzustellen.

Chlorreich und chlorarm ernährte Ratten weisen also im Coffeinversuch keine qualitativen Unterschiede auf. Dagegen ergibt sich bei quantitativer Betrachtung eine stärkere Ausscheidungsverminderung, d. h. eine vermehrte Einsparung bei den chlorarm ernährten Tieren für die Wasserausscheidung und bei der Kaliumausscheidung für 5 mg/100 g, vielleicht auch für die kleinere Dosis.

Beim Natrium war ein derartiger Unterschied nicht festzustellen.

Beim Harnchlor war dagegen die reine, d. h. die über die Injektionswirkung hinausgehende Coffeinwirkung bei den chlorarm ernährten Tieren geringer als bei den chlorreich ernährten.

Unsere Beobachtungen bestätigen die frühere Erfahrung, daß die Beeinflussung des Kaliums und Natriums häufig nicht parallel gehen.

Es ist im Augenblick noch nicht möglich, die Verschiedenartigkeit der Coffeinwirkung in den Sommer- und Winterversuchen zu erklären.

Während die Winterversuche bei sämtlichen geprüften Teilvorgängen eine länger andauernde Mehrausscheidung ergaben, zeigten die früheren Sommerversuche eine Einsparung beim Natrium und beim Chlor, die hier vorliegenden Sommerversuche eine eindeutige Einsparung bei Harnmenge, Harnchlor und Harnnatrium, teilweise auch beim Harnkalium. Derartige Unterschiede sind nicht nur im Mineralstoffwechsel festzustellen. Hindemith[7] fand in unserem Institut bei Untersuchungen über den Gasstoffwechsel der weißen Ratte unter der Einwirkung von Coffein im Winter eine Steigerung, im Sommer eine Senkung des O_2-Verbrauches.

Der Vergleich der chlorreich und chlorarm ernährten Tiere ergibt die geschilderten Unterschiede bei der Harnmenge und beim Harnkalium in Form einer verstärkten Einsparung bei chlorarmer Ernährung. Daß bei den chlorarm ernährten Tieren die durch Coffein bedingten Ausschläge der Chlorausscheidung geringer sind als bei den chlorreich ernährten Tieren, ist nicht verwunderlich. Die Wirkung auf die Chlorausscheidung ist bei diesen Tieren überdeckt von der unerwartet starken, aber verständlichen und unsere Ansichten weitgehend sichernden Wirkung der Injektion an sich.

Zusammenfassung.

An Ratten wurde die Wirkung der Injektion von destilliertem Wasser und von Coffein auf Harnmenge, Harnchlor, Harnkalium und Harnnatrium geprüft. Dabei ergab sich folgendes:

1. Wie in den früheren Versuchen bewirkte die Injektion an sich Änderungen über mehrere Tage.

2. Ebenso wurde der frühere Befund bestätigt, daß das Coffein im Sommer vorwiegend Senkungen der geprüften Ausscheidungen hervorruft, während in den Winterversuchen stets eine Vermehrung beobachtet wurde.

3. Während bei den chlorreich ernährten Tieren der Wasserinjektion eine leichte Vermehrung der Chlorausscheidung folgt, ist bei den chlorarm ernährten die Chlorausscheidung über 7 Tage vermindert. Dieser Befund wird in Übereinstimmung mit der früher entwickelten Erklärung so gedeutet, daß das nach der Injektion in die weitere Umgebung der Injektionsstelle einströmende Chlor vom chlorarmen Gewebe lange festgehalten wird. Ähnlich, wenn auch nicht so deutlich, ist das Verhalten der Wasserausscheidung.

4. Die Coffeinwirkung ist bei den chlorreich und den chlorarm ernährten Tieren qualitativ gleichartig. Bei quantitativer Betrachtung ergibt sich, daß bei den chlorarm ernährten Tieren die Wirkung auf die Chlorausscheidung geringer ist als bei den chlorreichen. Hinsichtlich des Harn-Na sind keine Unterschiede festzustellen. Dagegen zeigten Harnmenge und Harnkalium eine stärkere Wirkung, d. h. eine vermehrte Einsparung.

[7] Hindemith, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 587 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg.
(Direktor: Professor Dr. Fritz Eichholtz.)

Beitrag zum Cardiazol-Lungenödem.

Von
Willi Riechert.

(Eingegangen am 19. Mai 1941.)

Nachdem Jarisch und Mitarbeiter[1] zeigen konnten, daß durch suboccipitale Einspritzungen von Veratrin, Aconitin und Strophantin durch örtliche Einwirkung auf die Medulla bei Nagetieren ein Lungenödem hervorgerufen werden kann, war es naheliegend zu fragen, ob nicht auch zentrale Erregungsmittel, wie das Cardiazol, vom Blutwege aus ein Lungenödem erzeugen können. Diese Annahme konnten obige Autoren[2] bestätigen. Sie gaben bei der Ratte extrem hohe Dosen (200 mg kg). Uns interessierte daher in erster Linie die Fragestellung, ob durch Cardiazol in geringeren Dosen, die vergleichbar sind mit den therapeutischen Dosen bei Menschen, auch schon ein Lungenödem hervorgerufen werden kann. Ferner sollte festgestellt werden, wie lange ein durch Cardiazol hervorgerufenes Lungenödem andauert, und wie ein schon bestehendes Lungenödem (Phosgenödem) durch geringe Dosen von Cardiazol beeinflußt wird.

Nach Klärung dieser Frage wurde weiterhin untersucht, ob die Hälfte der untersten Krampfdosis und die unterste Krampfdosis selber bei wiederholter Injektion ein Lungenödem hervorrufen können.

Die experimentellen Untersuchungen von Eichholtz und Hoppe[3], die durch Zusatz von Suprarenin zu einer 1%igen Kokainlösung eine Verstärkung der Krampfwirkung und Herabsetzung der dosis letalis des Cocains feststellten, gab uns die Veranlassung, analoge Versuche mit Cardiazol als Krampfmittel und Adrenalin anzustellen, um zu erfahren, ob auch hier ähnliche Beziehungen zum Adrenalin bestehen, wie es beim Cocain der Fall ist.

Methodik.

Die Untersuchungen wurden an weißen Ratten durchgeführt. Den Tieren wurde die jeweilige Cardiazolmenge in eine der seitlichen Schwanzvenen injiziert, und zwar betrug die Injektionszeit 1 Minute. Als Test zur Feststellung der untersten Krampfdosis diente der ausgebildete Krampfzustand, einhergehend mit starker Steigerung der Atemfrequenz, lebhaften Laufbewegungen und typisch epileptiformem Krampfanfall. Der Nachweis,

[1] Jarisch, A., H. Richter u. H. Thoma: Klin. Wschr. **1939**, S. 1440. — [2] Jarisch, A., u. H. Thoma: Ebenda **1940**, S. 76. — [3] Eichholtz, F., u. G. Hoppe: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173**, 687 (1933).

ob ein Lungenödem vorlag oder nicht, erfolgte durch Bestimmung von Lungengewicht und Lungenvolumen.

Versuchsergebnisse.

Von 21 Tieren konnte das Durchschnittslungengewicht von 100 g Tier mit 1,1 g ermittelt werden. Das Gewicht schwankte zwischen 0,9 und 1,2 g.

Tabelle 1.

Durchschnittsgewicht der Tiere g	Zahl der Tiere	Cardiazolmenge pro kg Tier mg	Effekt	Krampfdauer
85	2	20	Aufregungs-	—
85	3	30	erscheinungen	—
235	3	40	Krämpfe	5

Vorliegende Tabelle zeigt die Ergebnisse bei der Bestimmung der intravenösen Krampfdosis an weißen Ratten. Bei 20—30 mg/kg Tier traten außer Lebhaftigkeit der Tiere und angedeutetem Zittern keine deutlichen Krämpfe auf. Dagegen bei 40 mg kg Tier hatten alle Tiere Krämpfe, die verschieden lange andauerten, und zwar von 2—10 Minuten. Die unterste Krampfdosis liegt also bei 40 mg/kg Tier Ratte.

Nachdem die Krampfdosis bestimmt war, wurde so weiter vorgegangen, daß jeweils 3 Versuchstiere nach 10 Minuten, nach 20 Minuten, bis 50 Minuten nach Beginn des Krampfes mit 1 ccm einer 5%igen KCN-Lösung i. m. getötet wurden, um festzustellen, ob diese Konzentration ein Lungenödem hervorruft und nach welcher Zeit es sich entwickelt. Nach Feststellung des Gewichtes und Volumens der Lunge erfolgte die übliche Errechnung des spezifischen und Durchschnittsgewichtes pro 100 g Tier.

Tabelle 2.

Gewicht der Tiere g	Zahl der Tiere	Cardiazolmenge mg/kg	Krampf	Dauer der Krämpfe Minuten	Getötet nach Minuten	Lungengewicht	Lungenvolumen	Spez. Gewicht	Lungengewicht pro 100 g Tier
180	3	40	+++	4	10	2,3	4,0	0,7	1,2
270	3	40	+++	51/2	20	2,8	4,3	0,7	1,2
175	4	40	+++	7	30	1,9	2,75	0,7	1,2
190	3	40	+++	5	40	2,3	3,2	0,7	1,2
170	3	40	+++	31/2	50	1,9	2,6	0,7	1,2

Es handelt sich in der vorliegenden Tabelle beim Gewicht und den Lungendaten um die Durchschnittswerte von je 3 Tieren. Der ausgebildete Krampfzustand ist mit 3 Kreuzchen angegeben. Die Lungengewichte und Lungenvolumina und die daraus errechneten spezifischen Gewichte und die Lungengewichte auf 100 g Tier bewegen sich durchaus im normalen Bereich. Auch makroskopisch konnten bei der Sektion keine Anzeichen eines Lungenödems festgestellt werden. Es bestand bei allen getöteten

Tieren weder eine Hyperämie der Lungen, noch konnte nach Anschneiden der Lungen durch vorsichtigen Druck, Flüssigkeit ausgedrückt werden, wie dieses beim Lungenödem der Fall ist. Die niedrigste Krampfdosis von Cardiazol (40 mg kg Tier) erzeugt daher kein Lungenödem an der Ratte.

In der 3. Versuchsserie wurden die Versuchstiere mit 60 mg Cardiazol behandelt, um zuerst einmal festzustellen, ob bei dieser Dosis Lungenödem auftritt. Bei 60 mg Cardiazol war die Schwere und Dauer der Krämpfe wesentlich stärker und länger anhaltend als dieses bei 40 mg zu beobachten war. Die Krampfdauer schwankte zwischen 5—15 Minuten. 2 Tiere gingen 15—20 Minuten nach Auftreten der Krämpfe ein; die Sektion zeigte deutlich ein Lungenödem. Auch makroskopisch waren die Anzeichen eines Lungenödems vorhanden.

Nachdem der Nachweis erbracht war, daß bei dieser Dosis regelmäßig ein Lungenödem auftrat, wurde so vorgegangen, daß nach Verabreichung dieser Dosis 20 Minuten, 40 Minuten usw. bis zu 8 Stunden gewartet wurde, um dann die Tiere zu töten, um daraus festzustellen, nach welcher Zeit das Lungenödem bei dieser Dosis zurückgeht. Die Werte, die sich aus diesem Versuch ergeben, können aus Tabelle 3 ersehen werden.

Tabelle 3.

Gewicht der Tiere g	Zahl der Tiere	Cardiazolmenge mg/kg	Effekt	Dauer der Krämpfe	Getötet nach Krampf	Lungengewicht	Lungenvolumen	Spez. Gewicht	Lungengewicht pro 100 g Tier
115	2	60	+++	15 Min.	20 Min.	2,5	3,0	0,8	2,3
115	2	60	+++	12 „	40 „	2,25	2,35	1,0	1,9
160	2	60	+++	10 „	1 Std.	2,20	3,0	0,7	1,4
110	2	60	+++	13 „	2 „	1,75	2,0	0,85	1,6
140	2	60	+++	13 „	3 „	2,1	3,0	0,7	1,5
100	2	60	+++	13 „	4 „	1,25	2,0	0,6	1,15
135	2	60	+++	11 „	6 „	2,10	2,5	0,8	1,60
95	2	60	+++	15 „	7 „	1,30	1,5	0.8	1,17
95	2	60	+++	15 „	8 „	0,90	1,5	0,6	0,90

Die Lungendaten aus Tabelle 3 bestätigen die Ergebnisse der Vorversuche, daß nach 60 mg/kg Tier Cardiazol regelmäßig ein Lungenödem auftritt. Nach den Lungenwerten zu urteilen, bezogen auf 100 g Tier, ist dieses nicht stark ausgebildet. Wenn man z. B. als normalen Durchschnittswert des Lungengewichtes pro 100 g Tier den eingangs festgestellten Wert an 21 Tieren von 1,1 g annimmt, so ist noch nach etwa 6 Stunden, gerechnet ab Auftreten der Krämpfe (60 mg Cardiazol i. v.), ein deutliches Lungenödem vorhanden. Nach 7—8 Stunden sind die Lungenwerte wieder normal. Hier betragen die Lungengewichte pro 100 g Tier 1,17 und 0,9 g. In der Tabelle kann man mit Fortschreiten der Zeit deutlich den Abfall der Lungendurchschnittsgewichte pro 100 g Tier beobachten, dies zeigt den Rückgang des Lungenödems an.

Jarisch und Mitarbeiter konnten beobachten, daß Chloralhydrat 0,6 g kg Tier die Entstehung von Lungenödem verhindert, ebenso Urethan 1,0 g kg Tier, letzteres jedoch nur beim Kaninchen und Meerschweinchen, aber nicht bei der Ratte.

Wir haben deshalb in unseren Versuchen vor der Cardiazolapplikation einige Tiere mit Avertin (rektal 1,33 ccm auf 100 g Tier einer 3%igen Avertinlösung) narkotisiert, um festzustellen, ob die Narkose einen Einfluß auf die Entstehung des Cardiazol-Lungenödems haben kann. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 4 angegeben.

20 Minuten nach der Avertingabe spritzten wir wie üblich 60 mg/kg Tier Cardiazol. Bei der Injektion befanden sich die Tiere in tiefer Narkose. Im Gegensatz zu den nicht mit Avertin vorbehandelten Tieren bekamen diese nach der Cardiazolinjektion keine Krämpfe.

30 Minuten nach der Cardiazolinjektion wurden die Tiere mit und ohne Avertinbehandlung getötet und seziert. Die mit Avertin narkotisierten Tiere zeigten nicht den Befund eines Lungenödems. Die nicht mit Avertin narkotisierten Tiere dagegen zeigten ein Lungenödem.

Tabelle 4.

Gewicht der Tiere g	Avertinmenge	Krampf	Cardiazolmenge	Lungengewicht g	Lungenvolumen ccm	Lungengewicht pro 100 g Tier	Lungenödem	Spez. Gewicht
180	1,3 ccm rektal	—	60 mg/kg Tier	1,7	2,5	0,94	—	0,62
150	einer 3%igen	—	60 „ „	1,4	2,0	0,93	—	0,7
150	Avertinlösung	—	60 „ „	1,9	2,5	1,2	—	0,76
155		+++	60 mg/kg Tier	2,6	3,0	1,75	+	0,86
160		+++	60 „ „	2,8	3,5	1,8	+	0,86

Zur Klärung der eingangs gestellten Frage, ob nicht krampferregende (therapeutische) Dosen von Cardiazol einen günstigen oder ungünstigen Einfluß auf ein bestehendes Lungenödem haben, wurden die Versuchstiere mit Phosgen vergast (0,211 mg pro Liter Luft, 6 Liter Luftdurchströmung in der Minute, Vergasungszeit 30 Minuten) und 7–8 Stunden danach die entsprechende Konzentration Cardiazol injiziert. Aus Kontrollversuchen konnte einwandfrei ersehen werden, daß die oben angegebene Konzentration von Phosgen in dieser Zeit ein deutliches Lungenödem hervorrufen. Da man weiß (Hildebrandt[4]), daß die Wirkung des Cardiazols nach etwa 2 Stunden verpufft ist, wurden die Tiere 30 Minuten nach der Cardiazolinjektion mit einer 5%igen KCN-Lösung getötet. In dieser Zeit steht das Versuchstier noch unter der Cardiazolwirkung.

Aus Tabelle 4 kann ersehen werden, daß von den 3 Kontrolltieren jedes einzelne deutlich den Befund eines Lungenödems zeigt. Das Lungengewicht pro 100 g Tier überschreitet weitaus den normalen Wert. Die

[4] Hildebrandt, F., u. J. Voss: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **118**, 259 (1926).

Tiere, die mit 10, 20 und 30 mg Cardiazol nach der beschriebenen Versuchszeit behandelt wurden, zeigten ebenfalls deutlich den Befund eines Lungenödems, jedoch besteht keine wesentliche Abweichung von den Lungenwerten der Kontrolltiere.

Tabelle 5.

Gewicht der Tiere g	Cardiazolmenge mg	Anzahl der Tiere	Lungengewicht	Lungenvolumen	Spez. Gewicht	Lungengewicht pro 100 g Tier
110	Kontrolle	3	2,93	3,5	0,85	2,6
110	10 mg Cardiazol	3	3,1	3,8	0,85	2,8
90	20 „ „	3	2,2	2,8	0,73	2,4
250	30 „ „	1	4,8	5,5	0,9	2,0

Die Feststellung von Hildebrandt und Voss, daß die halbe subcutane oder perorale Krampfdosis von Cardiazol bei der Wiederholung bei Ratten Krämpfe erzeugt, und zwar immer dann, wenn das Zeitintervall zwischen zwei hintereinanderfolgenden Injektionen unter 2 Stunden liegt, veranlaßte uns, ähnliche Versuche anzustellen, ob durch wiederholte Injektion einer nicht krampferregenden Dosis ein Lungenödem an Ratten zu erzielen ist. Der Zeitabstand zwischen 2 Injektionen betrug in der 1. Versuchsserie etwa 30—40 Minuten. In Tabelle 5 sind die entsprechenden Versuchsdaten angegeben.

In der 1. Versuchsserie wurden die Tiere in Abständen von 30—40 Minuten mit 20 mg/kg Tier intraperitoneal gespritzt. Nach der 6. Injektion gehen alle Tiere unter stark ausgeprägten Krämpfen ein. Von 7 Versuchstieren zeigen 4 Tiere den deutlichen Befund eines Lungenödems. Die Lungengewichte, bezogen auf 100 mg/kg Tier, betragen 1.5, 1.6, 1.8 und 2,1 g.

Erhöht man die Cardiazoldosis auf 40 mg, so traten bei allen Tieren die schwersten Krämpfe auf. Es überlebten nur ein Teil der Tiere die 2. Injektion, die aber dann nach der 3. Injektion eingehen. Von den 5 Versuchstieren zeigen alle auf Grund des Sektionsbefundes ein Lungenödem.

In der 3. und 4. Versuchsserie erhalten die Tiere in größeren Zeitabständen (1 Stunde 10 Minuten bis 1 Stunde 45 Minuten) Reinjektionen von Cardiazol (20 und 40 mg/kg Tier). Nach 20 mg Cardiazol trat nach der 3. Injektion bei 3 Versuchstieren ein leichter Krampfzustand auf, der nach der 6. Injektion bei 2 Tieren in starke Krämpfe überging. Nur bei 1 Tier ließ sich mit Sicherheit ein Lungenödem feststellen. Ein 2. Tier überstand auch die 6. Injektion.

Trotz eines Intervalls von 1 Stunde 10 Minuten gehen bei 40 mg/kg Tier schon bei der 2. Injektion 2 Tiere ein, das 3. Tier nach der 3. Injektion. Bei allen Tieren waren starke Krämpfe, und der Erwartung entsprechend, jetzt auch Lungenödem vorhanden.

Tabelle 6.

Versuchsserie	Gewicht der Tiere g	Konzentration vom Cardiazol mg/kg Tier	1. Injektion	Z	2. Injektion	Z	3. Injektion	Z	4. Injektion	Z	5. Injektion	Z	6. Injektion	Lungenwerte: Gewicht g	Volumen g	Gewicht 100 g Ratte
1.	230	20	+	25 Min.	+K	30 Min.	+K	40 Min.	+	20 Min.	+KKK!			4,2	6,0	1,8
	240	20	+	25 „	+K	30 „	+	40 „	+	20 „	+KKK!			2,8	3,5	1,17
	160	20	+	25 „	+K	30 „	+	40 „	+	20 „	+KKK!			3,4	6,0	2,1
	140	20	+	25 „	+K	30 „	+K	40 „	+	20 „	+KKK!			2,2	3,5	1,6
	200	20	+	40 „	+K	40 „	+	35 „	+K	35 „	+KK	1 Std.	+KKK!	2,1	3,0	1,0
	220	20	+	40 „	+K	40 „	+	35 „	+	35 „	+K	25 Min.	+KKK!	2,5	3,0	1,1
	210	20	+	40 „	+K	40 „	+	35 „	+K	35 „	+K	25 „	+KKK!	3,3	3,0	1,5
2.	170	40	+K	30 Min.	+KKK	30 „	+!							2,4	4,0	1,4
	190	40	+	30 „	+KKK	30 „	+!							2,9	3,3	1,5
	140	40	+	30 „	+KKK	30 „	+							2,8	3,0	2,0
	210	40	+K	30 „	+KKK	40 „	+							6,0	7,5	3,0
	180	40	+	30 „	+KKK	40 „	+KKK							2,6	2,0	1,4
	180	40	+	30 „	+KKK	40 „	+							5,3	7,0	3,0
3.	180	20	+	1 Std.	+	1 Std.	+K	1 Std.	+K	1 Std.	+	1 Std.	+KKK!	2,8	3,5	1,55
	170	20	+	15 Mi.	+	30 Mi.	+K	10 Mi.	+K	15 Mi.	+	30 Mi.	+KKK!			
	220	20	+		+		+K		+K		+			2,6	4,6	1,2
4.	150	40	+	1 Std.	+KKK	1 Std.								3,0	5,0	2,0
	150	40	+K	10 Mi.	+KKK	10 Mi.								4,3	4,5	3,0
	150	40	+		+		+KKK!							2,3	2,0	1,5

Z = Zeitintervall zwischen zwei benachbarten Injektionen.
KKK = Krämpfe. ! = Tier nach entsprechender Injektion eingegangen.

Zwischen Adrenalin und Cocain besteht ein Wirkungssynergismus, worauf Braun[5] aufmerksam gemacht hat. Überraschend ist dabei die Giftigkeitssteigerung des Cocains durch Adrenalin, wenn als Test der beginnende Krampfzustand angesehen wird. F. Eichholtz und G. Hoppe zeigten, daß Adrenalin die Krampfwirkung des Cocains verstärkt und außerdem die Krampfdosis herabsetzt.

Aus diesem Grunde wurde der Lösung von Cardiazol Suprarenin in den Konzentrationen 1 : 160000, 1 : 80000 usw. zugesetzt. Die Versuchstiere erhielten jeweils 20 mg Cardiazol kg Tier, also die halbe Krampfdosis. Erst bei dem Zusatz von Adrenalin 1 : 10000 traten bei dieser Cardiazolkonzentration Krämpfe auf, die durchschnittlich 1 Minute dauerten. Die Tiere, die nach 15 Minuten getötet wurden, zeigten kein Lungenödem.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Nach den vorliegenden Versuchsergebnissen muß als unterste krampferzeugende Dosis von Cardiazol bei Ratten 40 mg kg Tier angesehen werden, wenn das Cardiazol intravenös innerhalb von 1 Minute injiziert wird. Es wurde nachgewiesen, daß nicht einmal diese Grenzdosis zu Lungenödem führt, noch viel weniger unterschwellige Dosen in bezug auf Krampfzustand, wie sie in der Praxis verwendet werden.

Eine zweite Frage, die für die praktische Anwendung von Interesse ist, ist die, ob durch wiederholte Injektion von der untersten Krampfdosis und unterschwelligen Dosen Krämpfe bzw. Lungenödeme hervorgerufen werden können.

Nach der Untersuchung von Hildebrandt und Voss geht die Entgiftung des Cardiazols im Körper sehr schnell vor sich. Bei der hohen Resistenz des Cardiazols ist eine Zerstörung des Moleküls unwahrscheinlich. Es ist nach den Untersuchungen von Santesson und Granér[6] anzunehmen, daß das Cardiazol durch Paarung entgiftet und ausgeschieden wird. Bei einem Intervall von 2 Stunden zwischen 2 Cardiazolinjektionen der halben Krampfdosis bei der Ratte, verlief nach den Hildebrandtschen Untersuchungen die Entgiftung schneller als die Resorption, so daß es nicht gelang, mit dieser Dosis einen Krampf zu erzeugen, im Gegensatz zu den Versuchen, bei denen das Intervall unter 2 Stunden lag.

Unsere Versuche konnten zeigen, daß es im Tierexperiment ohne weiteres gelingt, mit der halben Krampfdosis durch schnell aufeinanderfolgende Injektionen eindeutig ein Lungenödem zu erzeugen, und zwar immer nur in den Fällen, in denen durch Kumulation der Wirkung ein schwerer Krampfzustand ausgelöst wird. (Siehe Tabelle 4.) Auch wenn das Intervall zwischen 2 Injektionen 1 Stunde 30 Minuten beträgt, wird

---

[5] Braun, H.: Lokalanästhesie, 4. Aufl., 1914; Arch. klin. Chir. **60**, 541 (1903). — [6] Santesson, C. G., u. H. D. Granér: Skand. Arch. Physiol. (Berlin u. Leipzig) **52**, 253 (1927).

ein Teil der Tiere im Laufe mehrerer Injektionen geschädigt, gehen unter der Erscheinung schwerer Krämpfe ein und zeigen den Befund eines Lungenödems. Bei der untersten Krampfdosis 40 mg/kg Tier ist dieser Zustand noch stärker ausgebildet.

Es kann mit Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß auch beim Menschen ähnliche Beziehungen bestehen, wenn man forciert in kurzen Zeitabständen Cardiazol applizieren würde. Es tritt eine Kumulation ein und die Cardiazolwirkung geht immer mehr in Richtung einer verstärkten therapeutischen Wirkung, und wenn trotz Erregung höher dosiert wird, auch in Richtung des Krampfzustandes.

Bei 40 mg Cardiazol traten Krämpfe ohne Lungenödem auf. Bei 60 mg kg Tier Ratte waren die Krämpfe mit Auftreten von Lungenödem verbunden; sie waren schwerer und lang andauernder. Die Tiere erholten sich aus der Erschöpfung nicht so schnell und brauchten 1—1½ Stunden, bis sie wieder laufen konnten.

Entsprechend dem festgestellten Lungenödem ist anfänglich die Atmung frequent, anschließend kann eine schwere Atmung beobachtet werden, die nach 2—3 Stunden wieder normal wird. Die lange Dauer der Krämpfe deutet darauf hin, daß es sich um ein schweres akutes Vergiftungsbild handelt, von dem sich die Tiere jedoch gut erholen.

Wie unsere Versuche gezeigt haben, kann durch Avertinnarkose die Entstehung von Cardiazollungenödem verhindert werden. Wie schon erwähnt, haben Jarisch und Mitarbeiter ähnliches beim Veratrinlungenödem beobachtet, jedoch scheint die Chloralose gegenüber dem Urethan und Chloralhydrat eine Ausnahme zu bilden, da durch Chloralose das Lungenödem beim Kaninchen nicht verhindert werden kann. Auch beim Urethan wird bei den einzelnen Tierarten (Kaninchen, Meerschweinchen und Ratte) die Entstehung des Lungenödems nur teilweise verhindert. Bei der Ratte entsteht trotz Urethannarkose durch Veratrin ein Lungenödem.

A. Jarisch und H. Thoma haben Ratten mit 200 mg/kg Tier Cardiazol getötet und fast alle Tiere zeigten außer zweien bei 18 Versuchstieren den Befund eines hochgradigen Lungenödems. Die Autoren gaben also die 3½fache Dosis der von uns angewandten. Nach Tabelle 3 ist ersichtlich, daß bei 60 mg kg Tier nach 20 Minuten ein deutliches, wenn auch nicht hochgradiges Lungenödem besteht, das schon nach 1 Stunde an Stärke abnimmt, nach 4—6 Stunden treten annähernd normale Lungenwerte auf. Nach dieser Zeit machen die Tiere keinen kranken Eindruck mehr. Nach 7—8 Stunden sind die Lungenwerte völlig normal.

Wenn man nun diese Verhältnisse mit denen bei einem Gasödem vergleicht, so fällt auf, daß das Cardiazollungenödem plötzlich auftritt, als Zeichen einer akuten Kreislaufstörung, dagegen aber sehr bald wieder abklingt; dieses ist beim Gasödem gerade umgekehrt. Gegenüber den Lungenwerten beim hochgradigen Phosgenödem ist das Ödem bei Cardiazol

in der Konzentration von 60 mg/kg Tier als nicht zu schwer zu bewerten, wenn man bedenkt, daß beim Phosgenödem durchschnittliche Lungenwerte auf 100 g Tier bezogen, von 4,0 g auftreten können. Damit mag auch zusammenhängen, daß sich trotz der schweren und langen Dauer der Krämpfe durch Cardiazol die Tiere gut erholen, und das Lungenödem nach 7 bis 8 Stunden zurückgegangen ist.

Daß das Cardiazol gegenüber von Strophantin-Veratrin nicht zentral gegeben werden braucht, liegt wohl daran, daß es einen zentralen Angriffspunkt hat. Es läßt sich auf jeden Fall vermuten, daß noch viele andere Mittel, außer den oben genannten, einen ähnlichen Einfluß auf die Bildung von Lungenödem haben könnten, nämlich voraussichtlich alle diejenigen, die ebenso schwere Krampfzustände auslösen wie Cardiazol. Die Frage der medikamentösen Behandlung des Lungenödems durch Kreislaufmittel ist noch nicht einheitlich geklärt. Da Adrenalin selbst, allerdings erst in hoher Dosis Lungenödem verursacht (0,2 ccm: 1 : 1250 100 g Ratte nach F. Eichholtz und G. Hoppe), so wird man genau abwägen, ob solche Mittel überhaupt bei der Behandlung von Lungenödem herangezogen werden dürfen. Beim Cardiazol scheint ein ähnlicher Fall vorzuliegen. Unsere Untersuchungen haben jedoch in Hinsicht dieser Frage an Ratten gezeigt, daß ein nachweislich bestehendes Phosgenlungenödem durch Cardiazol ($^1/_4$—$^3/_4$ der untersten Krampfdosis) weder ungünstig noch günstig beeinflußt wird.

Zusammenfassung.

1. Die unterste Krampfdosis von Cardiazol liegt bei 40 mg/kg Ratte (intravenös). Diese Dosis erzeugt kein Lungenödem.

2. 60 mg/kg Tier erzeugt intravenös gegeben ein Lungenödem, das innerhalb von 7—8 Stunden wieder zurückgeht.

3. Durch wiederholte Injektionen der halben Krampfdosis (intraperitoneal) wird ein starker Krampfzustand und damit zusammenhängend ein Lungenödem an der weißen Ratte hervorgerufen. Auch bei 40 mg tritt dieser Effekt in einem stärkeren Maße auf.

4. $^1/_4$, $^1/_2$ und $^3/_4$ der minimalen Krampfdosis beeinflussen ein bestehendes Phosgenlungenödem weder günstig noch ungünstig.

Für die Überlassung des Cardiazols für unsere Versuche möchte ich der Chemischen Firma Knoll A.-G., Ludwigshafen, meinen Dank aussprechen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Professor Dr. Fritz Eichholtz)
und dem Kaiser Wilhelm-Institut für medizinische Forschung in Heidelberg
(Direktor: Professor Dr. Richard Kuhn).

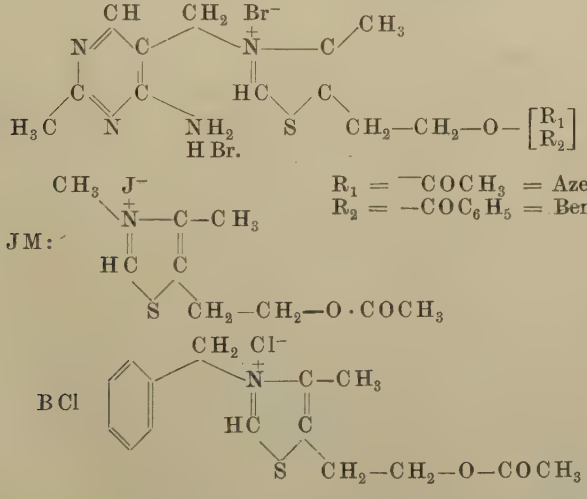
Untersuchungen über die Cholinesterase.

Von
Willi Riechert und Theodor Wieland.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. Mai 1941.)

W. Riechert und H. Hübschmann[1] konnten in einer früheren Arbeit feststellen, daß Azetylaneurin sowie Benzoylaneurin an der Katze eine Blutdrucksenkung hervorrufen. Weiterhin konnte beobachtet werden, daß nach vorheriger Gynergenisierung eine länger andauernde Wirkung dieser beiden Substanzen auf den Blutdruck erzielt werden kann. 0,1 bis 0,4 mg Azetylaneurin rufen vor der Lähmung der Cholinesterase einen deutlichen Effekt hervor. Nach der Lähmung sind diese Dosen jedoch wirkungslos. Vom Benzoylaneurin ist das gleiche zu sagen. Erst höhere Dosen zeigen einen Effekt, der aber gegenüber dem vor der Lähmung der Cholinesterase lang andauernder ist. Damit scheint eine Beziehung der Substanzen zur Cholinesterase zu bestehen, die L. Massart und R. Dufait[2], H. Birkhäuser und H. Süllmann[3] beim Azetylaneurin



$R_1 = -COCH_3$ = Azetylaneurin
$R_2 = -COC_6H_5$ = Benzoylaneurin

[1] Riechert, Willi, u. Heinrich Hübschmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 539 (1940). — [2] Massart, L., u. R. Dufait: Naturw., Jahrg. 27, Heft 33. [3] Süllmann, H., u. H. Birkhäuser: Schweiz. med. Wschr. Jahrg. 69, 648 (1939).

durch enzymatische Spaltung näher zu klären versucht haben. Es ist daher berechtigt, zu untersuchen, ob auch das Benzoylaneurin ähnlich dem Azetylaneurin durch cholinesterasehaltige Präparate gespalten wird und in welchem Verhältnis diese Spaltung zum Acetylcholin erfolgt.

Außerdem gelangten in dieser Arbeit zwei weitere Substanzen zur Untersuchung, Derivate des Thiazolanteils vom Aneurin, die sich, wie das Azetyl- und Benzoylaneurin durch eine Estergruppe im Molekül auszeichnen. Diese Substanzen, das 4-Methyl-5-azetoxyäthyl-N-methylthiazoliumjodid (JM) und das 4-Methyl-5-azetoxyäthyl-N-benzyl-thiazoliumchlorid (BCl) wurden von einem von uns (Th. W.) hergestellt.

Methode.

Als Methode zur Verfolgung der Azetylcholinspaltung und der der weiter zu untersuchenden Substanzen wurde die Warburgsche Apparatur benutzt, die für solche Untersuchungen von Ammon[4] angegeben wurde. Als Fermentlösung (Cholinesterase) diente der wässerige Extrakt von Blutegel. Die Blutegel wurden zerkleinert und anschließend mit gereinigtem Seesand zu einem Brei zerrieben und pro g Blutegel mit 2 ccm Ringerlösung versetzt, 3 Stunden bei Tagestemperatur stehen gelassen und dann zentrifugiert. 1 ccm Extrakt wurde dann entsprechend mit der gleichen Ringerlösung verdünnt. (Ringerlösung: 100 ccm 0,9%ige NaCl, 40 ccm 1,26%ige $NaHCO_3$, 2 ccm 1,2%ige KCl und 2 ccm 1,76%ige $CaCl_2$.) Zum Lösen der zu untersuchenden Substanzen diente die gleiche Ringerlösung. Azetyl- und Benzoylaneurin wurden mit den entsprechenden Mengen Natriumbicarbonat neutralisiert. Alle Substanzen hatten die gleiche molekulare Konzentration $4 \cdot 10^{-5}$. Das Gesamtvolumen in den Nikolai-Trögen betrug $v_F = 2$ ccm. Das Gasgemisch hatte die bekannte Zusammensetzung 95 Vol.% Stickstoff und 5% Kohlensäure. Die Versuchstemperatur betrug 37,4°. Neben den Hauptversuchen wurden gleichzeitig die Bestimmungen der Eigenhydrolyse der obengenannten Substanzen durchgeführt, die unter den beschriebenen Versuchsbedingungen in der Berechnung der CO_2-Werte vernachlässigt werden kann.

Versuchsergebnisse.

Azetylcholin wird durch Blutegelextrakt in der oben angegebenen Konzentration sehr intensiv gespalten. Nach einer Stunde entwickeln sich etwa 280 ccm CO_2 (siehe Abb. 1, 2 und 5). Unter diesen Versuchsbedingungen verläuft die Spaltung nicht linear; d. h. je weiter die Spaltung fortschreitet, um so mehr läßt sie nach. Abb. 1 und 2 zeigen nun, wovon diese Abweichung vom linearen Verlauf abhängig ist.

Wenn die Substratmenge (Abb. 1) gegenüber der Esterasekonzentration herabgemindert wird, so läßt die Spaltung sehr bald nach. Die Substrat-

[4] Ammon, R.: Pflügers Arch. **233**, 486.

menge nimmt im Verlauf der Spaltung immer mehr ab, und der Überschuß an Ferment kann nur noch auf einen kleinen Teil von Azetylcholin einwirken.

Wenn aber (Abb. 2) die Substratenmenge gleichbleibt, dagegen die Esterasekonzentration herabgemindert wird, so tritt bei der Verdünnung 1 : 20 gegenüber der von 1 : 5 ein fast linearer Verlauf der enzymatischen Spaltung auf. Unter diesen Bedingungen ist also ein Überschuß von Azetylcholin vorhanden, so daß dieser auch im weiteren Verlauf der Spaltung

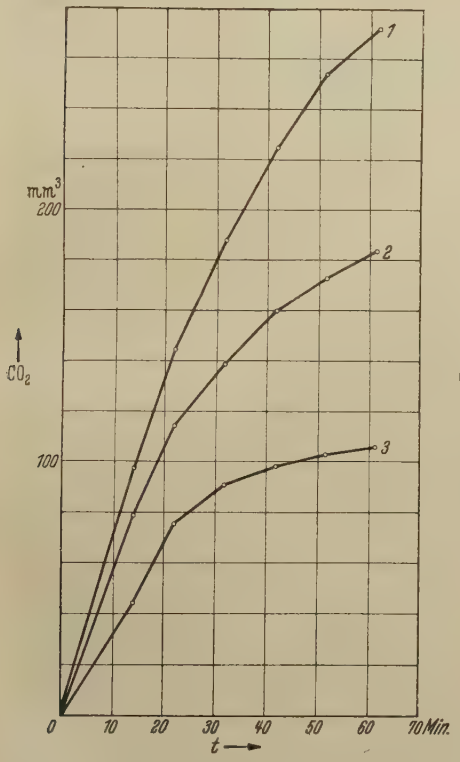


Abb. 1. Versuch (7. Juni 1940).
1. *Ach* = Azetylcholin 4×10^{-5} mol + *Eg* 1:5.
2. *Ach* 2×10^{-5} mol + *Eg* 1:5.
3. *Ach* 1×10^{-5} mol + *Eg* 1:5.

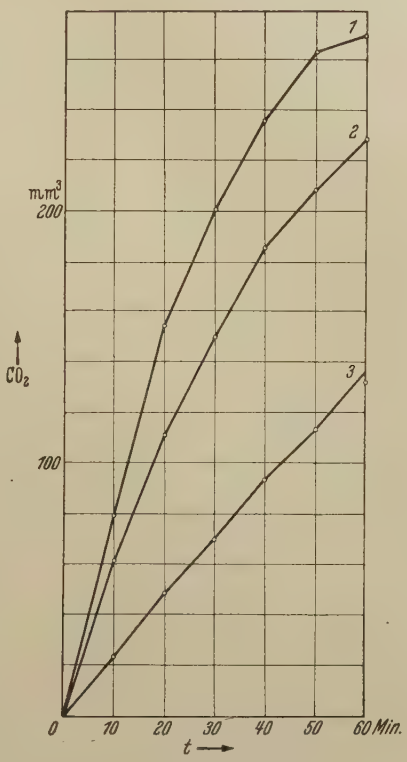


Abb. 2. Versuch (30. Januar 1941).
1. *Ach* 4×10^{-5} mol + *Eg* 1:5.
2. *Ach* 4×10^{-5} mol + *Eg* 1:10.
3. *Ach* 4×10^{-5} mol + *Eg* 1:20.

immer noch die Esterasekonzentration überwiegt. Damit ist die Grundbedingung für einen annähernd linearen Verlauf der Azetylcholinspaltung gegeben.

Das Azetylaneurin wird im Vergleich zu den noch anderen zu untersuchenden Substanzen weitaus am stärksten durch die Cholinesterase gespalten. Die Spaltung verläuft jedoch nicht so intensiv und damit

langsamer bei gleicher molekularer Konzentration gegenüber dem Azetylcholin. Wie aus Tabelle 1 zu ersehen ist, nimmt der Quotient $\frac{\text{gespaltenes Azetylcholin}}{\text{gespaltenes Azetylaneurin}}$ von 1,8—1,4 während einer Stunde ab, was mit dem nicht linearen Spaltungsverlauf unter den obengenannten Versuchsbedingungen zusammenhängt. Die Werte des Quotienten stimmen mit denen von H. Birkhäuser und H. Süllmann errechneten überein.

Physostigmin (0,002 mg in v_F = 2 ccm) hemmt nun annähernd total die Azetylcholin- sowie die Azetylaneurinspaltung, wie aus Abb. 3 zu ersehen ist.

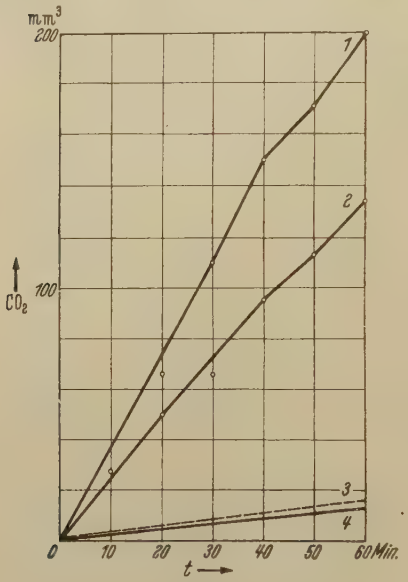


Abb. 3.
1. *Ach* 4×10^{-5} mol + *Eg* 1:5.
2. *AA* = Azetylaneurin 4×10^{-5} mol + *Eg* 1:5.
3. *Ach* 4×10^{-5} mol + *Eg* 1:5 + 0,002 mg Physostigmin.
4. *AA* 4×10^{-5} mol + *Eg* 1:5 + 0,002 mg Physostigmin.

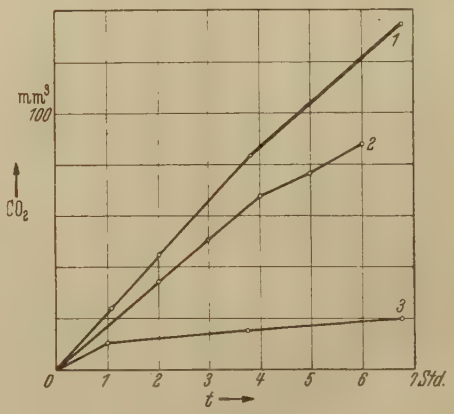


Abb. 4.
1. *BA* = Benzoylaneurin 4×10^{-5} mol + *Eg* 1:2.
2. *BA* 4×10^{-5} mol + Physostigmin 10 γ.
3. *BA* 4×10^{-5} mol + Physostigmin 0,5 mg.

Tabelle 1.

Zeit Minuten	Co_2 mm³			Quotient	
	Ach	*AA*	*BA*	$\frac{Ach}{AA}$	$\frac{Ach}{BA}$
10	86,4	49,4	4,2	1,8	20,6
20	154	79,8	7,0	1,9	22,0
30	202	124,6	9,8	1,6	20,0
40	246	155,4	12,6	1,6	20,0
50	275	197,4	14,0	1,4	20,0
60	304	217,0	18,2	1,4	17,0

Ach = Azetylcholin. *AA* = Azetylaneurin. *BA* = Benzoylaneurin. Blutegelextrakt 1:5. v_F = 2 ccm, t = 37,4°.

Das Benzoylaneurin wird nun ebenfalls durch Blutegelextrakt gespalten, jedoch in einem viel geringeren Maße gegenüber dem Azetylaneurin. Man muß hier die Hydrolyse über Stunden ausdehnen, um zu deutlichen Effekten zu gelangen. In Abb. 4 beträgt die Blutegelkonzentration 1 : 2 und die Benzoylaneurinkonzentration $4 \cdot 10^{-5}$. Nach 6 Stunden haben sich 120 ccm CO_2 entwickelt. Geringe Konzentrationen von Physostigmin (0,002 mg) zeigen keinen Einfluß auf die Spaltung, erst bei 0,01 mg ist ein deutlicher, wenn auch geringer Hemmungseffekt zu erkennen. 0,5 mg zeigen eine Hemmung von etwa 80%. Gegenüber dem Azetylcholin wird das Benzoylaneurin 20mal schwächer durch den Blutegelextrakt gespalten.

Die beiden anderen Substanzen [(JM) und (BCl)] verhalten sich ähnlich wie das Benzoylaneurin. Auch hier verläuft die Spaltung äußerst langsam; 90—100 cmm CO_2 werden im Laufe von 5 Stunden entwickelt. Im Vergleich zu der Spaltung dieser beiden Substanzen durch Blutegelextrakt ist in Abb. 5 der Spaltungsverlauf des Azetylcholins unter den gleichen Versuchsbedingungen über eine Stunde graphisch dargestellt. Wie beim Benzoylaneurin hemmen auch hier erst höhere Physostigminkonzentration die enzymatische Spaltung. Bei 0,05 mg Physostigmin sulfuricum beträgt diese etwa 50%.

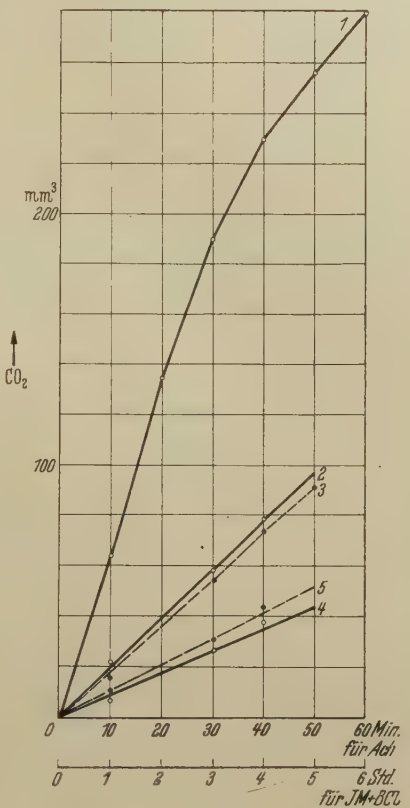


Abb. 5.
1. *Ach* 4×10^{-5} mol + *Eg* 1:5.
2. *JM* 4×10^{-5} mol + *Eg* 1:5.
3. *BCl* 4×10^{-5} mol + *Eg* 1:5.
4. *JM* 4×10^{-5} mol + *Eg* 1:5 + Physostigmin 50 γ.
5. *BCl* 4×10^{-5} mol + *Eg* 1:5 + Physostigmin 50 γ.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die vorliegenden Versuche zeigen einen eindeutigen Effekt von Blutegelextrakt auf die Azetylaneurinhydrolyse, wenn dieses auch nicht so stark wie das Azetylcholin gespalten wird. Nach den Beobachtungen von H. Süllmann und H. Birkhäuser scheint jedoch ein Unterschied in der Spaltbarkeit des Azetylaneurins gegenüber dem Azetylcholin durch verschiedene cholinesterasehaltige Präparate zu bestehen, denn das Ver-

hältnis der Spaltung beider Substanzen beträgt beim Gehirnextrakt 1 : 10, beim Blutegelextrakt 1 : 6 – 1 : 2,1. Ferner konnten L. Massart und R. Dufait im Gegensatz zu beiden ebengenannten Autoren auch eine Spaltung des Azetylaneurins durch Pferdeserum feststellen.

Ob nun das Azetylcholin und das Azetylaneurin durch zwei verschiedene Fermente gespalten werden, ist wohl trotz der eben genannten Unterschiede auszuschließen, da das spezifische Hemmungsmittel der Cholinesterase, das Physostigmin, die Hydrolyse beider Substanzen schon in ganz kleinen Konzentrationen hemmt.

Beim Benzoylaneurin und auch beim 4-Methyl-5-azetoxyäthyl-N-methyl-thiazoliumjodid und 4-Methyl-5-azetoxyäthyl-N-benzylthiazoliumchlorid bestehen jedoch merkliche Unterschiede gegenüber dem Azetylcholin und Azetylaneurin in Hinsicht ihrer Spaltung durch den Blutegelextrakt. In erster Linie ist die Spaltung eine wesentlich langsamere, und trotz dieser geringen Spaltung erreicht man erst mit einer höheren Konzentration von Physostigmin eine Hemmung der Verseifung.

Ob bei den drei zuletzt genannten Substanzen die Spaltung durch die Cholinesterase stattfindet, kann wohl nach den vorliegenden Versuchen vermutet, doch nicht mit Bestimmtheit angenommen werden, da in diesen Fällen das Physostigmin nicht so spezifisch die Verseifung wie beim Azetylcholin und Azetylaneurin zu hemmen scheint.

Die eben ausgesprochene Vermutung der Spaltung des Benzoylaneurins durch die Cholinesterase wird durch die Versuchsergebnisse von Riechert[5] mit Benzoylaneurin am Blutdruck der Katze bekräftigt. 10 mg intravenös injiziert rufen eine deutliche Blutdrucksenkung hervor, die 5 Minuten anhält. Nach Lähmung der Cholinesterase mit Gynergen tritt eine Abschwächung der Blutdrucksenkung ein, dagegen eine wesentliche Verlängerung der Wirkungsdauer, wie es aus der gleichen Arbeit vom Azetylcholin und Azetylaneurin bekannt ist.

Darstellung der Thiazoliumsalze.

4-Methyl-5-azetoxyäthyl-N-methylthiazoliumjodid.

1 g 4-Methyl-5-azetoxyäthylthiazol wurden mit 0,8 g Methyljodid 2 Stunden im Rohr auf 110° erhitzt. Der nach dem Abkühlen kristallisierte Rohrinhalt wurde aus Azeton und wenig Methanol umkristallisiert. Nach dem Umfällen aus Methanol mit Äther Nadeln vom Schmp. 131,5–132°.

4,980 mg Subst.: 0,182 ccm N_2 (22°, 748 mm).
$C_9H_{14}O_2NSJ$ (327,0). Ber. N 4,29. Gef. N 4,19.

[5] Riechert, Willi: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 546 (1940).

4-Methyl-5-azetoxyäthyl-N-benzylthiazoliumchlorid.

1 g 4-Methyl-5-azetoxyäthylthiazol wurden mit 0,7 g Benzylchlorid im Paraffinbad im Verlauf von 2 Stunden auf 115°, dann $^1/_4$ Stunde auf 130° erhitzt. Der rotbraune Sirup kristallisierte beim Durchreiben mit trockenem Azeton vollständig. Zweimal umkristallisieren aus Azeton und wenig Methanol lieferte flache Nadeln vom Schmp. 105°.

5,034 mg Subst.: 0,205 ccm N_2 (22°, 748 mm).
$C_{15}H_{18}O_2NSCl$ (311,5). Ber. N 4,49. Gef. N 4,66.

Zusammenfassung.

1. Neben dem Azetylcholin wird das Azetylaneurin durch die Cholinesterase gespalten.

2. Benzoylaneurin und das 4-Methyl-5-azetoxyäthyl-N-methylthiazoliumjodid und das 4-Methyl-5-azetoxyäthyl-N-benzylthiazoliumchlorid werden im Gegensatz zum Azetylaneurin durch wässerige Blutegelextrakte in einem wesentlich geringeren Maße gespalten. Ob auch hierfür die Cholinesterase verantwortlich ist, läßt sich nur vermuten.

3. Im Gegensatz zum Azetylaneurin und Azetylcholin wird die Spaltung erst durch höhere Konzentration von Physostigmin gehemmt.

Für die Überlassung des Azetylcholins und des Azetylaneurins möchte ich der Chemischen Firma Hoffmann-La Roche, Berlin, und für das Physostigmin der Firma Boehringer Sohn, Ingelheim, meinen Dank aussprechen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg.
(Direktor: Prof. Dr. E. Keeser.)

Vergleichende Untersuchungen über die Wirkungsstärke des Morphins und seiner Derivate.

II. Mitteilung.

Von

H.-A. Oelkers und **H. Fiedler.**

(Eingegangen am 30. März 1941.)

Wie bereits in der ersten Mitteilung[1] beschrieben, sind unsere Kenntnisse über die Wirkungsstärke der verschiedenen Morphinderivate noch lückenhaft und stützen sich oft außer auf methodisch oder rein zahlenmäßig unzureichende Tierversuche im wesentlichen auf Beobachtungen am Krankenbett. So hat der Umstand, daß z. B. Eukodal bei Patienten, die Morphin schlecht vertragen, oft kein Erbrechen oder ähnlich unangenehme Nebenwirkungen hervorruft, anscheinend zu der Annahme geführt, daß auch die gefährlichste Nebenwirkung des Morphins, die atemlähmende, diesem Präparat fehlt, so daß sogar gelegentlich seine Anwendung in solchen Fällen empfohlen wurde, wo Morphin wegen der Wirkung auf das Atemzentrum mit Recht als kontraindiziert gilt (vgl. z. B. Muntsch[2] u. a.).

Frühere Untersuchungen[1] an Kaninchen und Katzen ergaben jedoch, daß Eukodal stärker atemlähmend wirkt als Morphin, ein Befund, der nach kürzlich an der hiesigen I. Mediz. Universitäts-Klinik begonnenen Untersuchungen, auch für den Menschen zuzutreffen scheint. In Anbetracht der gerade bei den Opiumalkaloiden bestehenden Schwierigkeit, die im Tierversuch erhobenen Befunde auf den Menschen zu übertragen, erscheint diese Bestätigung des Tierversuchs besonders wertvoll. Es wurden nun in Fortsetzung der früher begonnenen Untersuchungen[1] weitere Opiumalkaloide sowie die gebräuchlichsten ihrer Derivate hinsichtlich der Toxizität, der atemlähmenden und der schmerzstillenden Wirkung miteinander verglichen.

Zur Untersuchung kamen die Alkaloide Heroin, Paracodin, Dionin, Acedicon, Papaverin und Narkotin sowie die Alkaloidgemische Narkophin, Laudanon und Pantopon. Außerdem wurden bei einem Teil der Versuche

---

[1] Oelkers, H.-A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 296 (1940). — [2] Muntsch, O.: Leitf. d. Path. u. Ther. d. Kampfgaserkrankgn., S. 56 u. 317. Leipzig, Georg Thieme Verlag, 1939.

die bereits früher untersuchten Alkaloide — Morphin, Eukodal, Dilaudid, Dicodid und Codein — zu Vergleichszwecken nochmals mit herangezogen.

Wie bereits früher beschrieben[3], lassen einfache Toxizitätsprüfungen bei den Opiumalkaloiden und ihren Derivaten kaum Rückschlüsse auf ihre Giftigkeit für den Menschen zu, da beim Tier nach hohen Dosen die atmungslähmende Wirkung dieser Alkaloide hinter einer zentralerregenden und krampfmachenden Wirkung zurücktritt. Trotzdem schien es — zumindest aus theoretischen Gründen, auf die hier zunächst nicht weiter eingegangen werden soll — wichtig, die verschiedenen Alkaloide und Alkaloidgemische auch in Hinblick auf die beim Tier Krämpfe erregenden und schließlich tödlich wirkenden Dosen miteinander zu vergleichen.

Diese Untersuchungen, deren Ergebnisse zunächst kurz geschildert werden sollen, wurden nach der früher beschriebenen Technik[1] an weißen Mäusen durchgeführt. Hierbei ist es vielleicht wichtig, darauf hinzuweisen, daß man sich für derartige Untersuchungen zweckmäßig geeichter Glasspritzen mit eingeschliffenem Kolben bedient. Auf diese Weise lassen sich Ungenauigkeiten bei der Injektion durch Hochdrücken des Spritzeninhaltes am Stempel vorbei in den oberen Spritzenteil vermeiden.

Die Tabelle 1 gibt die Ergebnisse der Versuche mit Heroinhydrochlorid wieder. Es wurden 0,25-, 0,5- und 1,0%ige Lösungen dieses Alkaloidsalzes benutzt.

Tabelle 1.

Heroinhydrochlorid mg/g Maus	Zahl der Versuchstiere	Gestorbene Tiere	
		Anzahl	%
0,08	12	0	0
0,09	10	1	10
0,10	8	2	25
0,12	8	1	13
0,15	8	4	50
0,18	8	4	50
0,20	10	4	40
0,22	8	4	50
0,25	8	6	75
0,28	6	6	100
0,30	4	4	100

Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist Heroin mehr als doppelt so giftig wie Morphin. Die gefährlichen Dosen beginnen bereits bei der subcutanen Injektion von 0,09 mg/g Maus. Die mittlere letale Gabe liegt zwischen 0,20 und 0,25 mg/g Maus; sicher letal wirken 0,28 mg/g Maus.

Die Vergiftungssymptome entwickeln sich sehr schnell nach der Injektion und entsprechen in allen wesentlichen Punkten denen des Morphins. Unruhe und Krämpfe sind allerdings etwas heftiger und der Eintritt des Todes erfolgt nach hohen Dosen bereits im Verlauf der ersten oder zweiten Stunde nach der Injektion.

Paracodin (Dihydrocodein), das in Form des von der herstellenden Firma (Knoll A.-G.) zur Verfügung gestellten Hydrochlorids als 0,5%ige

[3] Oelkers, l. c.

Tabelle 2.

Paracodin-hydrochlorid mg/g Maus	Zahl der Versuchstiere	Gestorbene Tiere	
		Anzahl	%
0,06	9	0	0
0,08	12	2	17
0,10	15	3	20
0,12	16	4	25
0,13	10	5	50
0,14	5	3	60
0,15	9	6	67
0,18	5	5	100
0,20	8	6	75
0,22	8	6	75
0,25	8	8	100
0,28	4	4	100

Tabelle 3.

Dionin mg/g Maus	Zahl der Versuchstiere	Gestorbene Tiere	
		Anzahl	%
0,08	8	0	0
0,10	8	0	0
0,12	8	1	13
0,15	6	0	0
0,18	8	2	25
0,20	10	3	30
0,22	8	3	38
0.25	8	6	75
0,28	8	8	100

Lösung untersucht wurde, ist deutlich giftiger als Codein, an dessen Stelle es gelegentlich als Hustenmittel benutzt wird.

Bereits Dosen von 0,07 mg/g Maus an rufen bei einem Teil der Tiere Krämpfe hervor und 0,14 mg Paracodinhydrochlorid pro g Maus sind als mittlere letale Dosis anzusehen. Sicher letal wirkt allerdings erst die subcutane Injektion von 0,25 mg Paracodinhydrochlorid pro g Maus.

In der Literatur fanden sich keine Angaben über die Giftigkeit des Paracodins für Mäuse. Für Meerschweinchen beträgt in guter Übereinstimmung mit dem in der Tabelle 2 niedergelegten Ergebnis die letale Dosis 0,2 g/kg[4].

Dionin (Äthylmorphinhydrochlorid), das ähnlich wie Paracodin gelegentlich mit den Indikationen des Codeins gebraucht wird, ist ebenfalls für die Maus erheblich giftiger als Codeinphosphat. Die Toxizitätsbestimmungen wurden mit einer 0.5 %igen Lösung durchgeführt.

Die Tabelle 3 zeigt, daß die mittlere letale Dosis 0,22—0,25 mg und die sicher letale Dosis 0,28 mg Dionin pro g Maus beträgt. Die Vergiftung verläuft auch hier mit Unruhe, gesteigerter Reflexerregbarkeit, Lähmungen und Krämpfen. Die kleinste Dosis, die bei einem Teil der Tiere Krämpfe hervorrruft, beträgt 0,10—0,12 mg/g Maus. Nach Literaturangaben[4] beträgt die letale Dosis für Mäuse 0,2 g/kg.

Acedicon, das Chlorhydrat des Azetyldimethyldihydrothebains, ist giftiger als Dionin und zeigt ebenfalls bereits bei verhältnismäßig niedrigen Dosen eine starke krampfmachende Wirkung. Die Toxizitätsbestimmungen wurden auch hier mit einer 0,5 %igen Lösung durchgeführt.

[4] Flury, F., u. F. Zernik: Handb. d. biol. Arbeitsmethod. Abt. IV, 7. B II, S. 1289, Berlin 1935.

Die mittlere letale Dosis des Acedicons beträgt etwa 0,15 mg und die sicher letale Dosis 0,18 mg g Maus. Die kleinste Dosis, die bei einigen Tieren Krämpfe hervorrief, betrug 0,04 mg/g Maus. Das Untersuchungsergebnis entspricht mithin recht gut den Angaben von Wieland und Behrens [5], wonach Acedicon etwa viermal giftiger ist als Morphin.

Tabelle 4.

Acedicon mg/g Maus	Zahl der Versuchstiere	Gestorbene Tiere	
		Anzahl	%
0,02	8	0	0
0,04	8	1	13
0,05	8	1	13
0,08	12	3	25
0,10	10	2	20
0,12	10	5	50
0,15	10	5	50
0,18	6	6	100
0,20	4	4	100

Tabelle 5.

Papaverinhydrochlorid mg/g Maus	Zahl der Versuchstiere	Gestorbene Tiere	
		Anzahl	%
0,15	6	0	0
0,18	6	0	0
0,20	8	0	0
0,22	6	0	0
0,25	8	1	13
0,28	4	0	0
0,30	10	2	20
0,32	10	4	40
0,35	10	3	30
0,38	8	7	88
0,40	8	8	100

Einige Versuche mit Papaverinhydrochlorid, das ebenfalls in 0,5%iger Lösung subcutan injiziert wurde, ergaben, daß dieses Opiumalkaloid ebenfalls in höheren Dosen (etwa ab 0,2 mg pro g) Krämpfe hervorruft, doch fehlt die bei entsprechenden Dosen von Morphin und den anderen, bisher besprochenen Opiumalkaloiden bzw. ihren Derivaten auftretende starke Unruhe. Die Tiere liegen nach diesen und höheren Dosen von Papaverin in einem narkoseähnlichen Zustand, der gelegentlich von Krämpfen unterbrochen wird, platt am Boden, reagieren jedoch auf Schmerzreize. Die Atemfrequenz ist herabgesetzt. Die tödlichen Dosen sind niedriger als die des Morphins, und zwar beträgt die mittlere letale Dosis etwa 0,35 und die sicher letale Dosis 0,38—0,4 mg pro g Maus. Die krampfmachenden Dosen beginnen bei 0,2 mg/g Maus. In der Literatur [4] wird als letale Dosis bei subcutaner Injektion 0,16 mg Papaverin pro g Maus angegeben.

Versuche mit dem Opiumalkaloid Narkotin, für die 1,0- und 2,0%ige Lösungen von Narkotinhydrochlorid benutzt wurden, ergaben in guter Übereinstimmung mit den Befunden von Kiessig [6], daß die letalen Dosen für die Maus annähernd die gleichen wie beim Morphin sind.

Die Tabelle 6 zeigt, daß die mittlere tödliche Dosis 0,45—0,48 mg Narkotinhydrochlorid pro g Maus beträgt, während nach der Injektion

[5] Wieland, H., u. B. Behrens: D. med. Wschr. **1929**, S. 303. — [6] Kiessig, H.-J.: Schmerz, Narkose, Anästhesie **13**, 86 (1940).

Tabelle 6.

Narkotin-hydrochlorid mg/g Maus	Zahl der Versuchstiere	Gestorbene Tiere	
		Anzahl	%
0,20	8	0	0
0,22	8	0	0
0,25	8	2	25
0,28	8	2	25
0,30	6	2	33
0,35	8	2	25
0,38	8	3	38
0,40	10	3	30
0,42	10	4	40
0,45	10	5	50
0,48	10	6	60
0,50	10	8	80
0,52	10	9	90
0,55	10	8	80
0,58	10	10	100

Tabelle 7.

Narkophin mg/g Maus	Zahl der Versuchstiere	Gestorbene Tiere	
		Anzahl	%
0,25	12	0	0
0,28	10	2	20
0,30	12	2	17
0,32	10	2	20
0,35	14	7	50
0,38	8	4	50
0,40	8	4	50
0,42	10	6	60
0,45	12	8	66
0,48	6	6	100
0,50	8	7	88
0,52	8	7	88
0,55	10	9	90
0,58	8	8	100

von 0,58 mg Narkotinhydrochlorid pro g Maus alle Tiere starben. Ähnlich wie bei den Versuchen mit Morphin wirken aber auch hier bereits verhältnismäßig kleine Dosen bei einigen Tieren tödlich.

Das Vergiftungsbild weicht von dem des Morphins stark ab, da hier bei den Mäusen nach allen geprüften Dosen eine ausgesprochene beruhigende bzw. narkotische Wirkung mit Lähmungserscheinungen besonders an den hinteren Extremitäten eintrat.

Die Tiere, die nach höheren Dosen gewöhnlich bewegungslos und platt ausgestreckt dalagen, reagierten jedoch noch auf Schmerzreize. Nach tödlichen Dosen pflegen sich längere Zeit (1—2 Stunden) nach der Injektion Krämpfe zu entwickeln, die gewöhnlich zunächst mit Spasmen der hinteren Extremitäten beginnen. Die Krämpfe nehmen später, von Pausen unterbrochen, zu und entwickeln sich häufig zu Rollkrämpfen, die teilweise noch 24 Stunden nach der Injektion des Narkotins beobachtet werden konnten. Tiere, die sich nach hohen Dosen wieder erholen, machen noch nach 48 Stunden einen kranken Eindruck.

Kiessig[6], der die Toxizität von Morphin und Narkotin an einer sehr großen Zahl von Mäusen (insgesamt 1050) miteinander verglich, fand als mittlere tödliche Dosis für Narkotin 550—590 mg/kg Maus und für Morphinum hydrochloricum 610 mg/kg Maus.

Versuche mit Narkophin (Morphin-Narkotin-Mekonat) wurden mit 1,0- und 2,0%igen Lösungen durchgeführt.

Wie die Tabelle 7 zeigt, sind als sicher letale Gabe 0,58 mg Narkophin pro g Maus anzusehen. Durch die Kombination der beiden Alkaloide Morphin und Narkotin kommt es also nicht zu einer wesentlichen Giftigkeitsänderung des Morphins, wie das Caesar[7], der seine Versuche ebenfalls an Mäusen vornahm, behauptete, sondern es addieren sich die Giftwirkungen der beiden Alkaloide (vgl. hierüber die ausführlichen Untersuchungen von Kiessig[6]). Die Vergiftungssymptome entsprechen in allen wesentlichen Punkten denen des Morphins: Es kommt nach hohen Dosen zunächst zu Reflexsteigerung, starker Unruhe und zu Bewegungsdrang der Tiere, der später durch Lähmungserscheinungen und Krämpfe gehemmt wird. Der Tod erfolgte auch hier gewöhnlich während oder kurz nach einem Krampfanfall.

Tabelle 8.

Laudanon mg/g Maus	Zahl der Versuchstiere	Gestorbene Tiere	
		Anzahl	%
0,15	6	0	0
0,18	8	1	13
0,20	12	3	25
0,22	10	3	30
0,25	12	6	50
0,28	8	4	50
0,30	8	6	75
0,32	4	3	75
0,35	4	3	75
0,38	4	4	100
0,40	5	4	80
0,42	6	6	100
0,45	8	8	100

Tabelle 9.

Pantopon mg/g Maus	Zahl der Versuchstiere	Gestorbene Tiere	
		Anzahl	%
0,18	10	0	0
0,20	12	0	0
0,22	10	0	0
0,25	12	3	25
0,28	12	2	17
0,30	12	4	33
0,32	12	5	42
0,35	12	10	83
0,38	8	7	88
0,40	4	3	75
0,42	4	4	100
0,45	6	6	100
0,48	4	4	100

Die Ergebnisse von Versuchen mit Laudanon und Pantopon stimmen im wesentlichen überein, wie aus den Tabellen 8 und 9 hervorgeht. Die Vergiftungssymptome entsprechen fast völlig denen des Morphins, das in beiden Präparaten zu 50 % enthalten ist. Die letalen Dosen sind allerdings etwas niedriger.

Laudanon wirkte bei diesen Versuchen von 0,18 mg/g Maus an krampfmachend, während beim Pantopon erst von 0,25 mg pro g Maus an leichte Krämpfe beobachtet wurden. Dosen oberhalb von 0,4 mg pro g Maus wurden nur von wenigen Tieren überlebt. Mit Sicherheit letal wirkten bei beiden Präparaten 0,45 mg pro g Maus.

[7] Caesar, H.: Biochem. Z. **42**, 316 (1912).

Die letalen Dosen sind mithin bei beiden Präparaten etwas niedriger als die des Morphins.

Bei der Bestimmung der letalen Dosen der verschiedenen Opiumalkaloide sowie ihrer Derivate fiel immer wieder auf, daß die gefährlichen Dosen, die bei einem Teil der Tiere bereits tödlich wirken, verhältnismäßig klein sind. Mit der Steigerung dieser Dosen nimmt der Prozentsatz der tödlich vergifteten Tiere zunächst ziemlich rasch, dann aber nur noch langsam zu, so daß die Dosis, die den Tod von etwa der Hälfte der Versuchstiere verursacht, um etwa 30—50 %, die Dosis, die alle Versuchstiere tötet, aber oft zwei- bis dreimal höher ist als diejenige, die nur für wenige Tiere tödlich ist. Diese „kleinste letale Dosis" der geschilderten Versuche, die übrigens meist mit der kleinsten krampfmachenden Dosis annähernd zusammenfällt, stimmt eigenartigerweise häufig gut mit der von älteren Untersuchern als sicher letal angegebenen Dosis überein.

In der folgenden Tabelle 10 sind die Ergebnisse der hier geschilderten Toxizitätsbestimmungen noch einmal zusammengestellt. Zum Vergleich wurden die früher untersuchten Alkaloide, mit denen noch einige Kontrollversuche durchgeführt wurden, hier mit aufgeführt.

Tabelle 10.

	Kleinste krampfmachende Dosis (für einige Tiere bereits tödlich)	Sicher letale Dosis
	mg/g Maus	mg/g
Morphinhydrochlorid	0,25	0,58
Codeinphosphat	0,20	0,38
Papaverinhydrochlorid	0,22	0,40
Narkotinhydrochlorid	0,25	0,58
Narkophin	0,25	0,58
Laudanon	0,18	0,42
Pantopon	0,20	0,45
Heroinhydrochlorid	0,09	0,30
Dilaudid	0,07	0,17
Dionin	0,12	0,28
Eukodal	0,22	0,50
Paracodinhydrochlorid	0,08	0,25
Dicodid	0,14	0,22
Acedicon	0,04	0,18

Die Tabelle 10 zeigt in Übereinstimmung mit dem bereits oben gesagten, daß aus den im Tierversuch bestimmten letalen Dosen sich kaum Schlüsse auf die Giftigkeit dieser Alkaloide für den Menschen ziehen lassen.

Es wurden daher die früher begonnenen Untersuchungen über die atemlähmende Wirkung der verschiedenen Alkaloide bzw. Alkaloidgemische fortgesetzt. Vorversuche ergaben, daß sich für derartige Bestimmungen das Meerschweinchen als Versuchstier besonders gut eignet.

Die Billigkeit und leichte Beschaffbarkeit der Tiere ermöglicht es außerdem, mit verhältnismäßig großen Tierzahlen zu arbeiten.

Es wurden daher die zum Teil früher bereits an Kaninchen und Katzen vorgenommenen Untersuchungen mit dieser Tierart nochmals wiederholt und zunächst für jedes der 14 Präparate sowie für Peronin die kleinste Dosis bestimmt, die, subcutan injiziert, bei der Mehrzahl der Tiere (etwa 80%) gerade eine deutliche Abnahme der Atemfrequenz (um 10—15%) herbeiführt.

Zur Versuchstechnik ist zu sagen, daß man die 300—700 g schweren Tiere am besten einzeln in einen Vakuumexsikkator setzt, der mit einer Marey-Kapsel verbunden ist, auf die die Atembewegungen nach dem Schließen des Exsikkators übertragen werden. Man läßt die Tiere zweckmäßig zunächst eine halbe Stunde in dem offenen Exsikkator sitzen und beginnt erst dann mit den Bestimmungen der Atemfrequenz.

Für jede Bestimmung wird der Deckel des Exsikkators kurz geschlossen und nach dem Zählen der Atemzüge wieder geöffnet, um Kohlensäureanhäufung sowie Abnahme des Sauerstoffs im Gefäß zu vermeiden. Diese Bestimmungen werden in Abständen von 5—10 Minuten wiederholt, bis bei drei oder vier aufeinanderfolgenden Messungen konstante Werte erhalten werden. Dies ist gewöhnlich sehr bald der Fall, wenn die Versuche in einem ruhigen, leicht verdunkelten Raum vorgenommen werden. Nur selten findet man auffällig schreckhafte Tiere, die für diese Versuche ungeeignet sind. Die Mehrzahl beruhigt sich rasch, gerät in eine Art Halbschlaf und zeigt dann stundenlang fast unveränderte Werte für die Atemfrequenz. Erschrecken der Tiere, z. B. durch stärkere Geräusche, führt zu vorübergehender Zunahme der Atemfrequenz.

In weiteren Versuchen wurden an anderen Meerschweinchen die kleinsten Dosen der gleichen Alkaloide bzw. Alkaloidgemische bestimmt, die bei subcutaner Injektion eine Abnahme des Atemvolumens um 10 bis 15% herbeiführen.

Die Tiere atmeten bei diesen Versuchen reinen Sauerstoff, dessen Verbrauch gemessen wurde. Die ausgeatmete Kohlensäure wurde nicht bestimmt.

Die Ergebnisse der beiden Versuchsreihen sind in der Tabelle 11 zusammengestellt.

In die Tabelle 11 wurden außerdem die Ergebnisse weiterer Versuche aufgenommen, die wie die vorigen zum Teil gemeinsam mit Ertel[8], Dahmer[9], Richter[10], Martens[11], Moebius[12], Brüning[13], Villforth[14], Cronsnest[15] und Bödecker[16] durchgeführt wurden und bei denen die verschiedenen Präparate hinsichtlich ihrer analgetischen Wirkung am Meerschweinchen verglichen wurden.

---

[8] Ertel, R.: Dissertation Hamburg 1940. — [9] Dahmer, W.: Dissertation Hamburg 1940. — [10] Richter, H.: Dissertation Hamburg 1940. — [11] Martens, K.: Dissertation Hamburg 1940. — [12] Moebius, E.: Dissertation Hamburg 1940. — [13] Brüning, J.: Dissertation Hamburg 1941. — [14] Villforth, E.: Dissertation Hamburg 1941. — [15] Cronsnest, K. H.: Dissertation Hamburg 1941. — [11] Bödecker, F. K.: Dissertation Hamburg 1941.

Tabelle 11.

	Abnahme der Atemfrequenz um 10—15 % mg/100 g	Abnahme des Atemvolumens um 10—15 % mg/100 g	Volle Analgesie der Cornea mg/100 g	Volle Analgesie der Ohrmuschel mg/100 g
Morphinhydrochlorid	0,25	0,2	3,8	3,5
Codeinphosphat	0,8	0,7	8,5	9,0
Papaverinhydrochlorid	1,0	0,8	—	—
Narkotinhydrochlorid	—	—	—	—
Narkophin	0,5	0,45	7,5	7,2
Laudanon	0,4	0,4	5,0	5,0
Pantopon	0,45	0,35	5,0	4,7
Heroinhydrochlorid	0,015	0,01	0,3	0,3
Dilaudid	0,05	0,04	0,4	0,35
Dionin	0,6	0,5	7,0	7,0
Peronin	0,1	0,1	9,0	8,0
Eukodal	0,015	0,012	1,2	1,9
Paracodinhydrochlorid	1,0	0,8	9,5	9,5
Dicodid	0,06	0,05	2,0	2,0
Acedicon	0,1	0,08	2,0	2,0

Diese Prüfung auf Analgesie erfolgte einmal am Auge der Tiere, indem die kleinsten Dosen der Präparate bestimmt wurden, die bei subcutaner Injektion eine Analgesie der Hornhaut bewirken. Zur Feststellung der Analgesie diente die von Smilga[17] abgeänderte Regniersche[18] Methode. Hierbei wird mit einer an einem Stäbchen befestigten Reizborste die Cornea mit kurzen, rasch aufeinanderfolgenden Schlägen berührt, so daß sie sich jedesmal leicht eindellt. Volle Anästhesie wurde angenommen, wenn noch nach 10 derartigen Reizen der Lidschluß ausblieb.

Außerdem wurde die Stärke der Analgesie gleichzeitig an den Ohrmuscheln der Tiere durch Kneifen mit einer Arterienklemme (nach Péan) bestimmt. Volle Analgesie wurde angenommen, wenn auf das Anlegen der Klemme (in allen Versuchen dieselbe) an die Ohrmuschel keine Reaktion der Tiere mehr erfolgte.

Beide Verfahren geben gut reproduzierbare Werte. Sowohl an der Cornea wie an der Ohrmuschel lassen sich leicht verschiedene Grade der Schmerzverminderung — von der eben bemerkbaren Abschwächung bis zur völligen Aufhebung der Berührungs- bzw. Schmerzempfindung — feststellen.

In die Tabelle 11 wurden jedoch der besseren Übersichtlichkeit wegen nur die Dosen, die volle Analgesie an der Cornea und an der Ohrmuschel bewirkten, aufgenommen. Im allgemeinen waren zur völligen Aufhebung des Cornealreflexes etwas höhere Dosen als zur Beseitigung der Schmerzempfindung an der Ohrmuschel nötig. Da nicht alle Tiere gleich reagieren,

[17] Smilga, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **170**, 303 (1933). — [18] Regnier, J.: C. r. Acad. Sci. Paris **177**, 558 (1923).

so wurden in der Tabelle die Mittelwerte aus größeren Versuchsreihen angegeben.

Die Versuche mit den einzelnen Präparaten gestalteten sich im übrigen wie folgt:

Morphinhydrochlorid.

Benutzt wurden 0,4—4%ige Lösungen. Die subcutane Injektion von 0,2 mg des Alkaloidsalzes pro 100 g Meerschweinchen bewirkte bei der Mehrzahl der Tiere eine Abnahme des Atemvolumens um etwa 10%. Die Atemfrequenz war dagegen meist erst nach der Injektion von 0,25—0,3 mg pro 100 g deutlich herabgesetzt. Bei diesen Dosen war der Sauerstoffverbrauch fast stets bereits um 25—30% und nach Injektion von 0,6 bis 0,8 mg/100 g um 50% herabgesetzt. Eine stärkere Verminderung des Atemvolumens ließ sich hier wie bei den anderen Alkalien auch durch noch höhere Dosen nicht erzielen. Nur die Dauer der Wirkung ließ sich dadurch steigern.

Die Wirkung trat nach den Grenzdosen erst nach 15—20 Minuten, nach höheren Gaben etwas rascher ein und hielt verhältnismäßig lange an.

Die Wirkung auf die Atemfrequenz war gewöhnlich schon 5—10 Minuten vor der Beeinflussung des Atemvolumens zu erkennen.

Die Abschwächung der Schmerzempfindung begann bei Dosen oberhalb 1 mg/100 g Tier. Eine starke Herabsetzung des Cornealreflexes und der Schmerzempfindung am Ohr fand sich indessen erst nach der Injektion von 3,0 mg/100 g. Völlige Empfindungslosigkeit trat dann regelmäßig nach der Injektion von 3,5—3,8 mg Morphinhydrochlorid pro 100 g Körpergewicht ein.

Die volle Wirkung des Morphins war stets erst 25—30 Minuten nach der Injektion erreicht und hielt dann 2—3 Stunden an.

Die Tiere machten nach den genannten Dosen einen völlig benommenen Eindruck, doch wurde Rückenlage nicht beibehalten.

Codeinphosphat.

Die Injektion von 0,5 und 0,6 mg Codeinphosphat pro 100 g Tier hatte nur in wenigen Fällen eine geringfügige Abnahme (um etwa 5%) des Atemvolumens zur Folge. Die kleinsten Dosen, die Atemvolumen und Atemfrequenz bei den Meerschweinchen regelmäßig um etwa 10% herabsetzten, betrugen 0,7—0,8 mg/100 g. Steigerung dieser Dosen wirkte nur wenig stärker. So betrug z. B. die Abnahme des Atemvolumens und der Atemfrequenz nach der Injektion von 2,0 und 3,0 mg/100 g nur 12 bis 16%.

Die analgetische Wirkung begann in guter Übereinstimmung mit den Befunden von Hildebrandt[19] bei Injektion von 4—6 mg Codeinphosphat

[19] Hildebrandt, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **174**, 405 (1934).

pro 100 g Körpergewicht. Volle Analgesie der Hornhaut sowie des Ohres wurde in einigen Fällen nach der Injektion von 8–9 mg/100 g Tier erreicht.

Die beruhigende Wirkung des Codeins war ebenfalls sehr deutlich, wenngleich merklich geringer als die des Morphins. Die krampfmachenden Dosen begannen bei 10 mg und die tödlichen bereits bei 11–12 mg pro 100 g Körpergewicht.

Papaverinhydrochlorid.

Die Versuche mit Papaverinhydrochlorid ergaben, daß dieses Opiumalkaloid in Dosen von 0,8 mg pro 100 g Körpergewicht an das Atemvolumen um etwa 10% herabsetzt. Die Atemfrequenz ist erst nach etwas höheren Dosen — 1 mg/100 g — vermindert. Eine analgetische Wirkung ließ sich auch nach höchsten Dosen (bis zu 25 mg/100 g) nicht feststellen. Dagegen wirkten bereits relativ kleine Dosen merklich beruhigend (vgl. auch Schröder[20], Baxt[21] und Zeelen[22]). Nach Gaben von 3 mg/100 g an traten Bewegungsarmut und Schläfrigkeit ein und die Reaktion auf akustische Reize war stark herabgesetzt. Nach der Berührung der Cornea mit einer Reizborste wurden die Augen gewöhnlich auffällig lange Zeit geschlossen gehalten. Dies wurde bei den Versuchen mit anderen Alkaloiden nicht beobachtet.

Narkotinhydrochlorid.

Die Versuche mit Narkotin ergaben, daß dieses Alkaloid in kleinen und mittleren Dosen keine Wirkung auf das Atemzentrum ausübt. Die leichte Zunahme der Atemfrequenz, die man mitunter für 10—15 Minuten nach der subcutanen Injektion von Narkotinlösungen erhält, tritt gelegentlich auch nach der subcutanen Injektion von physiologischer Kochsalzlösung auf und ist mithin nicht auf das Narkotin, sondern auf den Schmerz oder den Schreck bei der Injektion zu beziehen. Erst nach Dosen von 3 bis 5 mg Narkotinhydrochlorid pro 100 g Körpergewicht an findet sich eine auf Narkotin zu beziehende Vermehrung der Atemfrequenz und gleichzeitig auch eine Steigerung des Atemvolumens um 10—20%.

Dieser Befund entspricht recht gut den alten Beobachtungen Meissners[23] und den neueren van Dongens[24] an Kaninchen. Hiernach erregt Narkotin auch bei diesen Tieren erst in Dosen von etwa 30 mg/kg (intravenös gegeben) an die Atmung.

Eine Abschwächung oder gar Aufhebung der Schmerzempfindung ließ sich bei den Versuchen nicht feststellen. Dagegen ließen die Tiere bei den Versuchen stets eine — allerdings nur sehr leichte — Beruhigung erkennen.

---

[20] Schröder: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **19**, 290 (1885). — [21] Baxt: Arch. Anat. u. Physiol. **1896**, S. 112. — [22] Zeelen: Z. f. exper. Path. u. Ther. **8**, 590 (1911). — [23] Meissner, R.: Biochem. Z. **54**, 395 (1913). — [24] van Dongen, K.: Acta neerld. Physiol. etc. **10**, 23 (1940).

Narkophin.

Die Untersuchung dieses Präparates (Narkotin-Morphin-Mekonat) erschien besonders interessant, da nach Straub[25] in der vorliegenden Kombination von Morphin und Narkotin die therapeutisch wertvollen Eigenschaften des Morphins durch Narkotin erheblich verstärkt („potenziert") die unerwünschten Nebenwirkungen dagegen stark herbgemindert sein sollen. Diese Angabe blieb allerdings nicht lange unwidersprochen (vgl. die zusammenfassende Darstellung von Starkenstein[26]).

Kiessig[6] wies kürzlich darauf hin, daß die älteren Untersuchungen zu dieser Frage vielfach außer an ungeeigneten Versuchstieren auch mit ganz ungenügenden Tierzahlen durchgeführt wurden, so daß ihnen zum Teil wenig Beweiskraft zukommt.

Aus der Tabelle 11 geht hervor, daß Narkophin wenn überhaupt, dann nur sehr wenig stärker analgetisch wirkt, als es seinem Morphingehalt (31,5%) entspricht. Eine Abschwächung des Cornealreflexes und der Schmerzempfindung an der Ohrmuschel wurde erst nach Narkophindosen oberhalb 2,5 mg pro 100 g Gewicht beobachtet. Vollständige Analgesie trat nach der Injektion von 7,5 mg (= 2,4 mg Morphin) pro 100 g Gewicht ein. Die gleiche Wirkung wurde durch 3,8 mg Morphinhydrochlorid (= 2,9 mg Morphin) pro 100 g Meerschweinchen erreicht. Kiessig fand an Hunden mit der von Kiessig und Orzechowski[27] angegebenen Technik ebenfalls, daß die Kombination gleicher Mengen von Narkotin und Morphin nicht stärker analgetisch wirkt, als es dem Morphingehalt der Mischung entspricht, und daß Narkotin allein gegeben keine Wirkung auf die Schmerzempfindung ausübt. Zu einem ähnlichen Ergebnis hinsichtlich des Narkophins kam mit anderer Technik auch Weiss[28] bei Versuchen an Kaninchen.

Die Wirkung auf das Atemzentrum war, wie die Tabelle 11 weiter zeigt, keineswegs geringer als es nach dem Morphingehalt des Präparates angenommen werden konnte, sondern entsprach ihm recht genau.

Aus der Literatur sowohl wie aus den geschilderten Versuchen geht übereinstimmend hervor, daß die kleinsten Narkotindosen, die erregend auf das Atemzentrum wirken, etwa 10mal größer sind als die kleinste Morphingabe, die bereits eine Lähmung der Atmung zur Folge hat. Eine Abschwächung der atemlähmenden Wirkung des Morphins durch Narkotin war daher von der Kombination, wie sie im Narkotin vorliegt, auch nicht zu erwarten.

Die folgenden beiden Präparate, **Laudanon** und **Pantopon** entsprechen ebenfalls hinsichtlich der atemlähmenden Wirkung ungefähr ihrem

---

[25] Straub, W.: Biochem. Z. **41**, 419 (1912); **57**, 156 (1913). — [26] Starkenstein, E.: Hefters Handb. d. exper. Pharm. II, 2, S. 1069ff. (1924). — [27] Kiessig u. Orzechowski: Schmerz, Narkose, Anästhesie **13**, 3, 49 (1940). — [28] Weiss, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 177, 1932.

Morphingehalt (50%). Die Herabsetzung der Schmerzempfindung trat hier jedoch bereits bei verhältnismäßig kleinen Dosen ein. Dies gilt sowohl für Laudanon wie für Pantopon, deren analgetische Wirkungen bei diesen Versuchen nahezu um 80% größer waren, als es nach dem Morphingehalt dieser Präparate angenommen werden konnte. Hier tritt also in der Tat durch die Kombination der verschiedenen Opiumalkaloide eine deutliche Zunahme einer therapeutisch wertvollen Wirkung ein, ohne daß — wenigstens im Tierversuch — gleichzeitig eine wesentliche Verstärkung der atemlähmenden Wirkung des Morphins erfolgt.

Bei beiden Präparaten fiel außerdem auf, daß sich Analgesie und Beruhigung etwas rascher als nach Morphin, nämlich 10—15 Minuten nach der subcutanen Injektion, einzustellen pflegten.

Heroinhydrochlorid.

Die starke atemlähmende Wirkung des Heroins wurde bereits von verschiedenen Untersuchern betont (vgl. hierüber Keil und Pöhls[29]). Nach C. F. Schmidt und W. Benson Harer[30] wirkt Heroin bei Katzen etwa 20mal stärker atemlähmend als Morphin. Wie die Tabelle 11 zeigt, trifft dies annähernd auch für Meerschweinchen zu.

Auch die narkotische Wirkung ist erheblich stärker als die des Morphins, denn bereits nach der subcutanen Injektion von 0,05 mg Heroinhydrochlorid pro 100 g Körpergewicht waren die Tiere deutlich benommen. Die analgetische Wirkung beginnt bei 0,08 mg/100 g. Der Cornealreflex war fast immer 7—10 Minuten nach der Injektion von 0,2 mg/100 g völlig erloschen, während an der Ohrmuschel die Schmerzempfindung gewöhnlich erst 15 Minuten nach der Injektion und auch dann nur leicht herabgesetzt war. Um auch hier volle Analgesie herbeizuführen, war die Injektion von 0,35—0,4 mg Heroinhydrochlorid pro 100 g Gewicht erforderlich. Die Wirkung dieser Dosen hielt nur verhältnismäßig kurze Zeit an und war gewöhnlich nach 30 Minuten wieder verschwunden.

Hieran und an der besonderen Versuchstechnik, bei der Fehlermöglichkeiten u. U. auch in dem individuell verschiedenen Verhalten gegen Novocain begründet sind, dürfte es liegen, daß Heroin bei den Untersuchungen von A. Weiss[28] nur eine knapp dreimal stärkere analgetische Wirkung als Morphin hatte, obwohl die übrigen Ergebnisse der Untersuchungen des Autors recht gut mit den eigenen übereinstimmen.

Pfeiffer und Seevers[31], die die analgetische Wirkung verschiedener Morphinderivate am Menschen miteinander verglichen, kamen zu dem Ergebnis, daß Heroin 5—8mal stärker analgetisch wirkt als Morphin.

---

[29] Keil, W., u. F.-H. Pöhls: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 285 (1936). — [30] Schmidt, C. F., u. W. B. Harer: J. of exper. med. **37**, 47 (1923). — [31] Pfeiffer, C. C., u. M. H. Seevers: J. Pharmacol. (Am.) **54**, 156 (1935).

Dilaudid.

In guter Übereinstimmung mit den früher[1] an Kaninchen, Katzen und Mäusen erhobenen Befunden zeigten auch die Versuche an Meerschweinchen, daß Dilaudid rund 5mal stärker atemlähmend und nahezu 10mal stärker analgetisch wirkt als Morphin. Die Wirkung der in der Tabelle 11 angegebenen Dosen auf die Schmerzempfindung begann etwa 20—25 Minuten nach der Injektion und hielt nahezu 2 Stunden unverändert an, um erst nach insgesamt 3—4 Stunden völlig zu verschwinden. Zu dieser Zeit ließ auch die narkotische Wirkung des Alkaloids nach.

Nach den Untersuchungen von Eddy und Reid[32] an Katzen und von Hildebrandt[19] an Meerschweinchen soll allerdings Dilaudid das Morphin hinsichtlich der analgetischen Wirkung nur um ungefähr das 5fache übertreffen. Molitor und Latven[33] konnten jedoch bei Katzen eine 6fache und bei Mäusen ebenfalls eine 10fach stärkere Wirkung des Dilaudids auf die Schmerzempfindung feststellen als die des Morphins. Koll und Reffert[34] fanden bei Hunden, daß Dilaudid annähernd 8mal stärker analgetisch wirkt als Morphin.

Dionin wirkt deutlich schwächer analgetisch und atemlähmend als Morphin, dem es im übrigen hinsichtlich der Geschwindigkeit des Wirkungseintritts und hinsichtlich der Wirkungsdauer sehr ähnelt. Auch eine narkotische Wirkung war bei diesen Versuchen deutlich zu erkennen. Die krampfmachende Wirkung ist allerdings erheblich stärker als die des Morphins. Nach der subcutanen Injektion von 9 mg Dionin pro 100 g Körpergewicht an traten bei den Meerschweinchen Unruhe, Zittern und Steigerung der Reflexerregbarkeit, gelegentlich auch bereits tetanische Krämpfe ein.

Peronin wirkt erheblich stärker atemlähmend und gleichzeitig schwächer analgetisch als Dionin. Die Wirkung beginnt ebenfalls etwa 20—30 Minuten nach der Injektion und hält etwa 2 Stunden an.

Eukodal.

Die Versuchsergebnisse zeigen in Bestätigung der früher erhobenen Befunde, daß die atemlähmende und die analgetische Wirkung des Eukodals bereits bei wesentlich kleineren Dosen beginnen als bei Morphin. Dabei ist die Wirkung auf die Atmung auch nach diesen Versuchen rund 10fach, die Wirkung auf die Schmerzempfindung aber nur rund 3fach größer als bei Morphin. Nach Koll und Reffert[34] wirkt Eukodal sogar nur 1,6mal stärker schmerzstillend als Morphin.

---

[32] Eddy, N. B., u. J. G. Reid: J. Pharmacol. (Am.) **52**, 468 (1934). — [33] Molitor, H., u. A. Latoen: Curr. Res. Anesth. a. Analg. **16**, 127 (1937). — [34] Koll, W., u. H. Reffert: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 687 (1938).

Tabelle 12.

Eukodal mg/100 g	Abnahme des Atemvolumens %	Morphinhydrochlorid mg/100 g	Abnahme des Atemvolumens %
0,01	5	0,1	0
0,01	7	0,1	0
0,015	10	0,15	5
0,015	9	0,15	0
0,015	8,5	0,15	8
0,02	14	0,2	9
0,02	17	0,2	15
0,02	13	0,2	11
0,04	28	0,4	28
0,04	32	0,4	36
0,04	35	0,4	34
0,08	42	0,8	52
0,08	38	0,8	41
0,08	47	0,8	38
0,2	41	2,0	47
0,2	48	2,0	51

Beide Wirkungen beginnen wesentlich rascher, nämlich bereits 5 bis 10 Minuten nach der subcutanen Injektion, sind aber dafür weniger anhaltend. Die Wirkung der in der Tabelle 11 angegebenen Dosen pflegt meist schon nach 30—40 Minuten abgeklungen zu sein.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde geprüft, ob die atemlähmende Wirkung des Eukodals mit steigenden Dosen vielleicht langsamer zunimmt als beim Morphin. Es zeigte sich, daß dies nicht der Fall ist (vgl. Tabelle 12). Bei beiden Alkaloiden geht ferner auch nach hohen Dosen die Verminderung des Atemvolumens nicht — oder doch nur unbedeutend — über 50 % des Ausgangswertes hinaus.

Paracodinhydrochlorid.

Die atemlähmende Wirkung des Paracodins erscheint nach der Tabelle 11 etwas geringer als die des Codeins. Bei Steigerung der in der Tabelle angegebenen Dosen nahm die Wirkung aber rasch zu und mit Gaben von 4,0—5,0 mg Paracodinhydrochlorid erreichte man Abnahmen des Atemvolumens um 20—30 %, während vom Codein auch noch höhere Dosen die Atmung gewöhnlich nur um etwa 15—18 % herabzusetzen pflegten. Hierdurch werden die Angaben anderer Untersucher, wonach Paracodin $1^1/_2$—$2^1/_2$mal stärker atemlähmend wirkt als Codein verständlich (vgl. z. B. Fraenkel[35] und Biberfeld[36]). Die Wirkung des Paracodins auf die Schmerzempfindung ist etwas schwächer als die des Codeins.

Nach der subcutanen Injektion von 11 und 12 mg pro 100 g Gewicht waren die Tiere zunächst stark benommen, um dann nach 30—40 Minuten Zittern, angestrengte, rasche Atmung und Krämpfe zu bekommen, die oft tödlich endeten.

Dicodidhydrochlorid.

Als kleinste Dosis, die bei einigen Tieren bereits die Atemfrequenz um etwa 10 % herabsetzt, sind 0,04 mg pro 100 g Körpergewicht anzusehen. Mit Sicherheit wurde diese Wirkung indessen erst durch die subcutane

[35] Fraenkel, A.: Münch. med. Wschr. **1913**, S. 522. — [36] Biberfeld, J.: Biochem. Z. **111**,91 (1920).

Injektion von 0,06 mg pro 100 g erreicht. Die Wirkung auf das Atemvolumen war nach der Injektion von 0,05 mg gewöhnlich deutlich feststellbar. Dicodid wirkt also nach diesen Versuchen stärker atemlähmend als früher beschrieben.

Die analgetische Wirkung des Dicodids ist ebenfalls größer als die des Morphins. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam auch Hildebrandt[19], während Koll und Reffert[34] bei Hunden eine schwächere Wirkung von Dicodid als von Morphin feststellen. Ähnlich wie bei den früheren Untersuchungen an Mäusen findet man auch bei Meerschweinchen gelegentlich — im ganzen aber doch seltener — Tiere, die auf Dicodid weniger ansprechen. Die Wirkung tritt übrigens deutlich rascher ein (nach 10 bis 15 Minuten) als die des Morphins.

Zusammenfassend muß man feststellen, daß Dicodid bei diesen Versuchen nahezu 4mal stärker atemlähmend und etwa doppelt so stark analgetisch wirkte wie Morphin.

Acedicon.

Auch Acedicon zeichnet sich durch einen verhältnismäßig raschen Wirkungseintritt aus, der etwa 5—10 Minuten nach der Injektion erfolgt. Die Wirkung auf die Atmung war nach den in der Tabelle angegebenen Dosen oft schon nach 20—30 Minuten wieder verschwunden.

Die Analgesie war bei fast allen Tieren bereits nach der Injektion von 1,0 mg/100 g an den Ohren vollständig. An der Cornea zeigte sich jedoch erst nach der Verabfolgung von 1,5 mg/100 g volle Analgesie, die dann 1—2 Stunden anhielt. Die Wirkung an der Cornea trat eigenartigerweise stets viel später auf als an den Ohrmuscheln, nämlich frühestens 25 bis 30 Minuten nach der subcutanen Injektion.

Acedicon wirkt also nach diesen Versuchen etwa 2mal stärker analgetisch und ungefähr 2—$2^1/_2$mal stärker atemlähmend als Morphin. Aus den orientierenden Versuchen von Wieland und Behrens[5] konnte auf eine schwächere Wirkung des Acedicons als des Morphins auf Schmerzempfindung und Atemzentrum geschlossen werden. Nach den Untersuchungen von Koll und Reffert[34] an Hunden wirkt Acedicon annähernd ebenso stark schmerzstillend wie Morphin.

Etwas höhere Dosen verursachten rasch Unruhe und tetanische Krämpfe. Ein Tier, das 4,0 mg/100 g erhalten hatte, bekam 10 Minuten nach der Injektion heftige Krämpfe und starb nach weiteren 10 Minuten.

Parallel mit den geschilderten Versuchen an Meerschweinchen wurde in Fortsetzung der früheren Untersuchungen auch an Mäusen nach der Methode von Hesse[37] ein Vergleich der analgetischen Wirkung der verschiedenen Präparate durchgeführt. Um einen Vergleich mit den früher untersuchten Alkaloiden (vgl. die erste Mitteilung) zu ermöglichen, wurden

[37] Hesse, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **158**, 233 (1936).

nochmals Versuche mit Morphinhydrochlorid vorgenommen und in der Tabelle mit angeführt.

Tabelle 13.

	Abschwächung der Schmerzreaktion bei 30–50% der Versuchstiere mg/g Maus	Volle Analgesie bei 10–20% der Versuchstiere mg/g Maus	Volle Analgesie bei 80–100% der Versuchstiere mg/g Maus
Morphinhydrochlorid	0,01	0,03–0,04	0,06 –0,08
Papaverinhydrochlorid	—	—	—
Narkotin	—	—	—
Narkophin	0,02	0,07	0,14 –0,15
Laudanon	0,01	0,05	0,09 –0,10
Pantopon	0,02	0,05	0,09 –0,10
Heroinhydrochlorid	0,01	0,002	0,003–0,004
Paracodinhydrochlorid	0,02	0,05	0,1 –0,12
Acedicon	0,02	0,03	0,04 –0,05

Auch bei diesen Versuchen konnte mit Papaverin und mit Narkotin keine Abschwächung der Schmerzempfindung erzielt werden. Die Wirkung des Narkophins entsprach auch hier ungefähr seinem Morphingehalt, während Laudanon und Pantopon stärker wirkten.

Paracodin hatte auch bei diesen Versuchen eine erheblich stärkere analgetische Wirkung als Codein, mit dem man bei Mäusen ja oft überhaupt keine vollkommene Analgesie erreichen kann (vgl. die erste Mitteilung).

Acedicon wirkte etwas stärker als Morphin, die Wirkung trat rascher ein, hielt aber weniger lange an.

Zusammenfassend läßt sich daher feststellen, daß die Versuche über die analgetische Wirkung nach der Methode von Hesse[37] an Mäusen im wesentlichen zu den gleichen Ergebnissen führten wie die entsprechenden Versuche an Meerschweinchen. Die Dosen, die hierbei volle Analgesie bewirken, liegen allerdings — pro kg Körpergewicht umgerechnet — etwas höher als bei den Versuchen an Meerschweinchen. Dies liegt daran, daß Schwanzwurzel und Analschleimhaut, die bei dieser Methode mittels Arterienklemme gepackt und gereizt werden, anscheinend besonders empfindlich sind, so daß hier noch Abwehrbewegungen erfolgen, während das Kneifen der Schwanzspitze oder der Ohrmuscheln mittels Arterienklemme von dem gleichen Tier nicht mehr wahrgenommen wird.

Auch bei diesen Versuchen ist es unbedingt erforderlich, daß stets die gleiche Klemme benutzt wird und daß die Untersuchungen hintereinander und in wenigen Tagen vom gleichen Untersucher durchgeführt werden, da sonst keine vergleichbaren Werte erhalten werden.

Ordnet man die untersuchten Präparate nach ihrer analgetischen Wirkungsstärke, so erhält man die in der Tabelle 14 aufgeführte Reihenfolge.

In der folgenden Tabelle 15 sind die verschiedenen Präparate in Hinblick auf ihre atemlähmende Wirkung bei Meerschweinchen geordnet.

Zum Vergleich sind auch die letalen Dosen für Mäuse mit angeführt. Man erkennt so deutlich, daß beide Werte nicht miteinander parallel gehen.

Tabelle 14.

	Analgesie Meerschweinchen mg/kg	Analgesie Mäuse mg/kg
Heroinhydrochlorid	3	4
Dilaudid	4	6
Eukodal	10	10
Acedicon	20	45
Dicodidhydrochlorid	20	60
Morphinhydrochlorid	38	70
Pantopon	48	95
Laudanon	50	95
Dionin	70	—
Narkophin	75	145
Codeinphosphat	85	—
Peronin	90	—
Paracodinhydrochlorid	95	120

Zur Beurteilung der Giftigkeit dieser Präparate für den Menschen wird man sich nach dem oben Gesagten in erster Linie nach der Größe der atemlähmenden Wirkung der Präparate richten müssen. Die bei der Bestimmung der letalen Dosen erhaltenen Werte wird man dann für die Beurteilung mit heranziehen müssen, wenn diese Werte — wie z. B. bei Acedicon, Dionin und Paracodin — im Verhältnis zur atemlähmenden Wirkung niedrig sind, so daß bei ungeeigneter Dosierung auch eine krampfmachende Wirkung für den Menschen vorstellbar ist.

Bei den Versuchen mit Narkotin an Mäusen war aufgefallen, daß die Tiere bereits nach relativ kleinen Dosen ruhig dasitzen, anscheinend schläfrig werden und auch nach hohen Dosen in keiner Weise Unruhe und Bewegungsdrang zeigen wie bei den Versuchen mit anderen Opiumalkaloiden. Einige daraufhin vorgenommenen Versuche nach der von Forst[38] an-

Tabelle 15.

	Kleinste bei Meerschweinchen die Atmung lähmende Dosis mg/kg	Sicher letale Dosis für Mäuse mg/kg
Heroinhydrochlorid	0,15	300
Eukodal	0,18	500
Dilaudid	0,45	170
Dicodid	0,55	220
Acedicon	0,9	180
Peronin	1,0	—
Morphinhydrochlorid	2,4	580
Holopon	3,8	—
Laudanon	4,0	420
Pantopon	4,0	450
Narkophin	4,3	580
Dionin	5,5	280
Codeinphosphat	7,5	380
Paracodinhydrochlorid	9,5	250
Papaverinhydrochlorid	10,0	400

[38] Forst, A. W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 251 (1939).

gegebenen Methode, bei der die spontane Beweglichkeit von Mäusen quantitativ erfaßt wird, bestätigte diesen Eindruck. Nach diesen Versuchen, die zur Zeit noch fortgesetzt werden, wirkt Narkotinhydrochlorid bei subcutaner Injektion etwa ab 0,01 γ g an beruhigend und schlaffördernd. Trotzdem ließ sich bei der gemeinsamen Injektion äquimolekularer Lösungen von Morphin- und Narkotinhydrochlorid die beruhigende Wirkung kleiner Morphindosen (0,5–10 γ/g) nicht deutlich verstärken. Ebenso war es nicht möglich, den nach höheren Morphindosen auftretenden Bewegungsdrang der Mäuse durch die gleichzeitige Injektion äquimolekularer Narkotinmengen zu unterdrücken. Etwas besser gelang dies, wenn man den Tieren außerdem noch Papaverin verabfolgte, das die normale Beweglichkeit von Mäusen, ähnlich aber stärker wie Narkotin, ebenfalls bereits in recht kleinen Dosen zu dämpfen vermag. Über diese Versuche, die gemeinsam mit H. Rösch begonnen wurden, soll später ausführlich berichtet werden.

Versuche an Katzen, die nach hohen Morphindosen auftretende sogenannte Morphinerregung durch vorherige oder gleichzeitige Narkotingaben zu verhindern, hatten ein negatives Ergebnis (vgl. auch Zeelen[39], Meissner[40] und Cooper und Hatcher[41]). Hierbei sei erwähnt, daß Morphin in kleinen Dosen (0,2–2 mg/kg) auch bei Katzen nicht erregend, sondern — allerdings nur leicht — beruhigend wirkt.

Zusammenfassung.

Es wurde die Wirkung der gebräuchlichsten Opiumalkaloide, ihrer Kombinationen und Derivate hinsichtlich der allgemeinen toxischen, atemlähmenden und analgetischen Wirkung an Meerschweinchen und an Mäusen miteinander verglichen.

Narkotin und ähnlich auch Papaverin lassen bei Mäusen eine deutliche sedative Wirkung erkennen. Es gelang jedoch nicht, die beruhigende Wirkung kleiner Morphingaben durch äquimolekulare Narkotindosen in nennenswertem Maße zu erhöhen oder die erregende Wirkung höherer Morphindosen durch entsprechende Narkotingaben zu verhindern.

---

[39] Zeelen, v.: Exper. Path. u. Ther. **8**, 586 (1911). — [40] Meissner, R.: Biochem. Z. **54**, 395 (1913). — [41] Cooper, N., u. R. A. Hatcher: J. Pharmacol. (Am.) **51**, 411 (1934).

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Zagreb
und dem Pharmakologischen Laboratorium Kaštel A. G.

Mutterkornalkaloide und Adrenalinumkehr.

Von
I. Ivančević und P. Stern.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. März 1941.)

Die Lehre von der spezifischen gefäßverengernden Adrenalinwirkung wurde zuerst von Morawitz[1] erschüttert, als er unzweifelhaft dargetan hat, daß Adrenalin die Herzgefäße erweitert. Später hat Rein die Regel aufstellen können, daß Adrenalin die Blutgefäße verengt, wenn die Organe ruhen und sie erweitert, wenn sie sich im tätigen Zustande befinden. Heute steht fest, daß dafür die lokale Stoffwechsellage in den Geweben maßgebend ist und der tätige Muskel auf physiologische Gaben von Adrenalin nicht wie der ruhende mit Verengung, sondern mit Erweiterung seiner Gefäße antwortet. Wie Kramer und Quensel[2] gezeigt haben, führt Adrenalin eine Mehrdurchblutung der tätigen Organe herbei. Hierbei konnten sie die Befunde von Anrep am natürlich durchbluteten Muskel für kurzdauernde Tetani bestätigen, während für länger dauernde Tetani die Ergebnisse Reins und seiner Schule bestätigt wurden.

Adrenalin erweitert die Blutgefäße auch bei Tieren, die mit Mutterkornalkaloiden vorbehandelt wurden, wie das schon Dale 1906 gezeigt hat. Seither ist über dieses Umkehrproblem der Adrenalinwirkung recht viel geschrieben worden. Man hat es auch verschiedenartig erklären wollen. Dale selbst hat eine Dissoziation von sympathischen Vasokonstriktoren und sympathischen Vasodilatatoren angenommen. Cannon und Lyman[3] hielten den jeweiligen Zustand des Erfolgsorgans für ausschlaggebend und verwiesen auf das Stoffwechselgeschehen. Bayliss[4] nahm eine Funktionsumkehr der Vasokonstriktoren an, Ken Kuré[4] eine Ausschaltung der Vasokonstriktoren und Offenbarung der sonst überdeckten Miterregung der im Splanchnikus mitlaufenden parasympathischen Vasodilatatoren. Barger[5] weist auf die Möglichkeit hin, daß Ergotoxin gewisse „receptor groups" besetzt oder saturiert, so daß Adrenalin nicht mehr von diesen fixiert werden und so auch nicht mehr seine Stimulation ausüben kann. Einige Arbeiten der letzten Zeit (Orze-

---

[1] Zbl. Physiol. **26**, 465 (1912). — [2] Pflügers Arch. **239**, 620 (1938). — [3] Zitiert nach Orzechowsky, Gronemeyer u. Malorny: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 237 (1940). — [4] Zit. nach Meyer u. Gottlieb: Lehrb. d. exper. Pharm., IX. Aufl., S. 259 (1936). — [5] Heffters Handb. exper. Pharmak., Erg.-Werk, VI. Bd., S. 99 (1938).

chowsky, Gronemeyer und Malorny[3]; Malorny und Orzechowsky[6]; Niessing und Orzechowsky[7]) versuchen auf ähnliche Weise die Umkehr so zu erklären, daß Mutterkornalkaloide auch Sympathomimetica sind und das adrenomimetische Gewebe saturieren, wodurch Adrenalin einfach nicht angreifen und wirken kann; es handle sich um eine „substantielle Blockade der spezifischen Strukturen". Immerhin ist der Mechanismus der Adrenalinumkehr bzw. Antagonismus zwischen Adrenalin und Sekalealkaloiden nicht geklärt.

Um das Problem vom anderen Standpunkt aus zu berühren, fragten wir uns, ob nicht der durch Mutterkornalkaloide herbeigeführte Zustand der Gewebe bzw. der Muskulatur jenem Zustand des tätigen, beanspruchten Muskels entspräche. Bekanntlich kommt es nach toxischen Gaben von Sekalealkaloiden zum Dauerkrampf der glatten Muskulatur, namentlich der Gefäße. Mutterkornalkaloide rufen bei verschiedenen Tieren allgemeine oder auf bestimmte Körperteile lokalisierte tonische und klonische Krämpfe hervor. Auch die Krämpfe und Kontrakturen bei Ergotismus convulsivus legen — ungeachtet der unklaren, vielleicht nicht einheitlichen Ätiologie — eine solche Annahme nahe. Dazu kommt noch die Tatsache, daß Mutterkornalkaloide die gefäßerweiternde Wirkung des Adrenalins am Herzen nicht hindern. Rothlin[8] bezeichnet diese Sekalewirkung am Herzen sui generis und hält sie nicht über das vegetative Nervensystem herkommend. Die Sekalealkaloide wirken nicht auf das Hormon Adrenalin selbst, denn es bildet sich auch in Herzen, die mit diesen Alkaloiden vergiftet wurden, wie dies Navratil[9] festgestellt hat. Sie paralysieren nicht die sympathischen Nervenendigungen, wo Adrenalin gebildet wird, sondern rufen Veränderungen am Erfolgsorgan hervor. Kokain, welches bekanntlich die Adrenalinwirkung potenziert (Fröhlich und Loewi[10]), beseitigt nicht die Umkehrwirkung der Sekalealkaloide. Bacq[11] meint, daß Ergotoxin direkt an Zellen des Erfolgsorganes angreift.

Um die Annahme, daß der Zustand, in dem sich das Gewebe bzw. die Muskulatur nach Vorbehandlung des Tieres mit Mutterkornalkaloiden befindet, dem tätigen Zustand entspricht, zu erhärten, wie auch um die Einwirkung von Sekalealkaloiden auf die quergestreifte Muskulatur zu veranschaulichen, bedienten wir uns des von Riml[12] angegebenen Verfahrens. Riml hat, wie bekannt in Anlehnung an die Beobachtung von Beznak und Sarkady[13], daß nach längeren körperlichen Anstrengungen eine Nebennierenhypertrophie eintritt, gezeigt, daß im Blute von Addisonkranken, von Tetanuskranken, wie auch im Blute von Gesunden, die gewaltige körperliche Anstrengungen hinter sich hatten,

---

[6] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 245, 253, 260, 469 (1940). — [7] Ebenda **196**, 473 (1940). — [8] Srpski Arh. Lekarst. (S.-Sl.) XLII, S. 381. — [9] Pflügers Arch. **217**, 610 (1927). — [10] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **62**, 159 (1910). — [11] Zit. nach Barger, l. c. — [12] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 35; **189**, 650 (1938); **194**, 248 (1940). — [13] Pflügers Arch. **234**, 157 (1934).

Substanzen kreisen, die bei der Muskeltätigkeit entstehen und am Tier Nebennierenveränderungen verursachen, die zur Rindenhypertrophie mit typischem histologischen Bild führen. Riml[14] hat auch eine Methode ausgearbeitet, die für klinisch-diagnostische Zwecke geeignet ist und sich gut bewährt hat. (Einer von uns hat sie mehrfach mit gutem Erfolg angewendet[15].) Solche humoral ausgelöste Tätigkeitssteigerung der Nebennierenrindenzellen ruft auch das kortikotrope Hormon des Hypophysenvorderlappens hervor, auch an hypophysektomierten Tieren, wie es Reis und Mitarbeiter[16] und Stern[17] zeigen konnten.

Versuchsanordnung.

Als Versuchstiere nahmen wir Ratten von 150—200 g. Sie wurden mit Ergotamintartrat Sandoz* und mit Sensibamintartrat Kaštel vorbehandelt, und zwar bekam eine Gruppe je 1 mg subcutan, die andere 5 mg. Nach 24 Stunden wurden die Tiere geopfert und die Nebennieren herauspräpariert. Die erste Gruppe zeigte schon makroskopisch Vergrößerungen, und das durchschnittliche Gewicht war um 20% größer als das der Kontrolltiere. Die histologische Untersuchung nahm Herr Prof. Saltykow vor und wir danken ihm an dieser Stelle bestens hierfür. Der Befund lautete: „Die Struktur der Nebennierenrinden von behandelten Ratten ist weniger scharf ausgeprägt, als bei den Kontrolltieren. Besser zu unterscheiden ist die Zona reticularis, während die Zeichnung der Zona glomerulosa und fasciculata oft verwischt ist, so daß manchmal begrenzte, unregelmäßige Anhäufungen von Zellen in diesen Zonen anzutreffen sind. Manchmal ist diese Veränderung in größerem Ausmaße zu sehen, und zwar wegen diffuser Hyperplasie der Zellen. An solchen Stellen sind die Epithelzellen besonders groß, hypertrophisch, aneinandergedrängt und drücken die Kapillaren zusammen, so daß hier keine Hyperämie besteht. In der Zona reticularis sind die Kapillaren oft erweitert und hyperämisch. In einzelnen Fällen sind in den Zellen dieser Zone besonders große Mengen kleiner Lipoidtropfen sichtbar.

Ähnliche hyperplastische Nester in der Zona fasciculata sind nur in einem Kontrollfalle gefunden worden, aber in kleinerem Ausmaß, und die Zona glomerulosa über diesen Nestern war scharf begrenzt.“

Wie aus dem Befunde hervorgeht, sind die histologischen Veränderungen an den Nebennieren der mit Mutterkornalkaloiden vergifteten Ratten dieselben, wie sie Riml an Meerschweinchen nach Injektion von Serum-Dialysat von Addison- und Tetanuskranken, sowie von Gesunden nach gewaltigen Körperanstrengungen bekommen hat.

---

[14] Z. klin. Med. **134**, 1 (1938). — [15] Liječn. Vjesn. LXII, S. 547 (1940). — [16] Endokrinologie **18**, 1 (1936). — [17] Acta brev. Neerland **10**, 196.

* Für das uns zur Verfügung gestellte Gynergen danken wir der Fa. Sandoz.

Auch in unseren Versuchen kam es infolge Einwirkung von Ergotamin und Sensibamin zur Änderung des Muskelstoffwechsels, wobei die Bildung und Ausscheidung eines Stoffes stattfand, der die Rindenhypertrophie der Nebennieren herbeiführte. Somit ist dieser Zustand demjenigen der

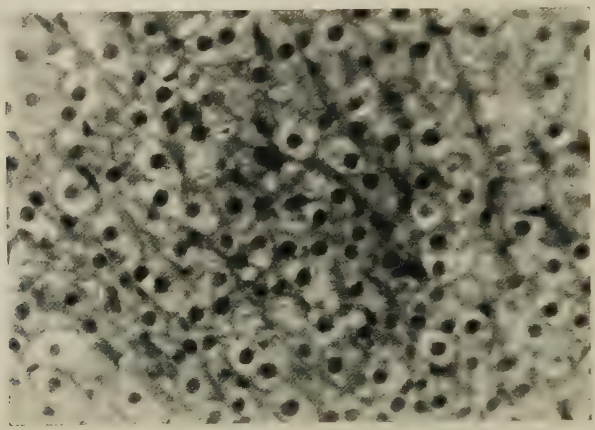


Abb. 1. Diffuse Hyperplasie der Epithelzellen der Zona fasciculata. Die Zellen sind dicht aneinandergedrängt.

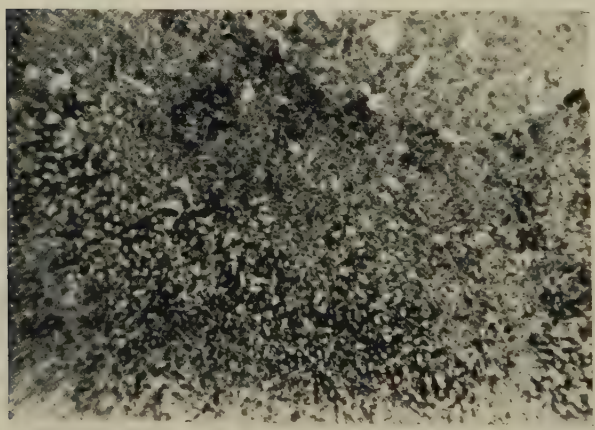


Abb. 2. Große Mengen kleiner Lipoidtropfen in der Zona reticularis.

erhöhten Beanspruchung der Muskulatur gleichzusetzen. Obwohl die makroskopische und gewichtsmäßige Drüsenvergrößerung nicht so regelmäßig und drastisch anzutreffen war — es mag an der verhältnismäßig sehr hohen Dosierung der Mutterkornalkaloide und der Tierspezies liegen —, sind die histologischen Bilder ganz typisch (siehe Abb. 1, 2 und 3).

In bezug auf die Adrenalinumkehr sind noch einige Beobachtungen und Angaben interessant. So haben Snyder[18] und Mitarbeiter die Umkehr

[18] Zit. nach Meyer u. Gottlieb: Lehrb. d. exper. Pharmakol., IX. Aufl., S. 422 (1936).

der durch Adrenalin hervorgerufenen Blutdrucksteigerung durch die Verschiebung der absoluten Blutreaktion auf die saure Seite beobachtet. Andererseits haben Lipman und Meyerhof[19] die Reaktionsänderungen des tätigen Muskels, die zuerst von anderen Autoren am Muskelbrei studiert wurden, am lebenden Organ während seiner Tätigkeit beobachtet und gemessen. Der Muskel ändert unter anaeroben Bedingungen seine Reaktion so, wie es durch bestimmte, zur Hauptsache bekannte Stoffwechselprodukte bedingt ist, und zwar zeigt sich im ersten Teil der anaeroben Ermüdung eine allmähliche Alkalisierung, die später in eine Säuerung

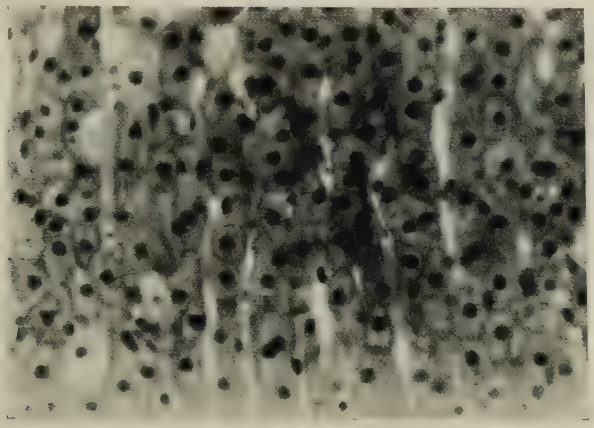


Abb. 3. Die erweiterten Kapillaren der Zona reticularis.

übergeht. Diese Befunde hat nachher Dubuisson[20] mit verbesserter Methodik bestätigen können.

Anschließend an diese Angaben wollten wir das Verhalten der absoluten Blutreaktion unter der Einwirkung von Mutterkornalkaloiden beobachten, da wir angenommen haben, daß sie sich auf die saure Seite verschieben wird. Dazu verwandten wir folgende

Methodik.

Es wurden große Katzen gewählt im Gewicht von ungefähr 4 kg, damit genügende Blutmengen gesichert wurden; denn für eine Entnahme brauchten wir 18 ccm Blut. Chloralose 0,06 g pro kg per os. Künstliche Atmung mit Starling-Pumpe. Blut-p_H wurde mit Hilfe von Lautenschlägers Ionometer mit kugeliger Glaselektrode, aus Jenaer Normalglas, bestimmt. Die Elektrode wurde stets mit Pufferacetat kontrolliert. Zur Verhinderung der Blutgerinnung verwendeten wir Heparin Schuchardt. Es wurde entweder in die Vena femoralis durch die Kanüle eingespritzt, oder dem herausgenommenen Blut beigegeben. In das Gefäß, in dem die

[19] Biochem. Z. **227**, 84 (1930). — [20] Pflügers Arch. **239**, 315 (1938).

Glaselektrode aufbewahrt war, gaben wir Paraffinöl, um den Austritt von CO_2 aus dem Blute zu verhindern, nachdem wir uns vorerst überzeugt hatten, daß es die Messungen nicht beeinträchtigt. Das Paraffin wurde mit Blut „unterschichtet". Den Tieren wurde Ergotamin Sandoz oder Sensibamin Kastel sehr langsam intravenös injiziert, und zwar 5—8 mg.

Das p_H des Ergotamins betrug 3,8, des Sensibamins 4,0.

Nach mehreren Versuchen setzten wir genaue Anordnungen in bezug auf technische Einzelheiten fest und arbeiteten nach diesen, um möglichst genaue Ergebnisse zu erhalten.

Tabelle 1.

Katze	Gewicht	Vorbehandelt mit	p_H vor dem Versuch	p_H nach Vorbehandlung	Bemerkung
1	3650 g ♀	5 mg Ergotamin	7,32	6,8	Heparin injiziert i. v.
2	3900 g ♂	5 mg Sensibamin	7,34	7,22	Heparin injiziert i. v.
3	4200 g ♂	8 mg Sensibamin	7,20	6,8	Heparin injiziert i. v.
4	3800 g ♂	8 mg Ergotamin	7,22	7,04	Heparin zugegeben nach Blutentnahme
5	3700 g ♂	Kontrolltier	7,30	7,28 ohne Vorbehandlung	Heparin zugegeben nach Blutentnahme

Wie aus einigen in der Tabelle 1 dargestellten Bestimmungen ersichtlich ist, kommt es nach intravenöser Injektion von Ergotamin und Sensibamin bei Katzen zur Verschiebung des p_H des Blutes auf die saure Seite. Diese Verschiebung geht langsam vor sich, ist aber regelmäßig anzutreffen. Die besten Resultate erhielten wir bei Blutentnahmen, die nicht vor 30 Minuten nach der venösen Alkaloidinjektion erfolgten. Diese Beobachtung stimmt mit der bekannten langsamen Einwirkung der Mutterkornalkaloide vollkommen überein. Sie stimmt aber auch überein mit der Erhöhung der Körperwärme, die nach Ergotamin mehrfach beobachtet wurde. Der durch Injektion von Sekalealkaloiden herbeigeführte Zustand der Gewebe bzw. der Muskulatur hat mit Rücksicht auf die Reaktionsänderung im Blut-p_H weitgehende Ähnlichkeit mit der Reaktionsänderung des tätigen, beanspruchten Muskels. Diese Analogie wird ganz besonders betont durch die Ergebnisse unserer ersten Versuchsreihe mit der gesteigerten Tätigkeit der Nebennierenrindenzellen.

Wenn man diese beiden Ergebnisse zusammen betrachtet, so muß man sagen, daß sowohl in der ersten als auch in der zweiten Versuchs-

anordnung die Einwirkung der Mutterkornalkaloide mit Stoffwechseländerungen einhergeht, die sich im Gewebe bzw. in der Muskulatur abspielen. Das eine Mal führten sie zur Tätigkeitssteigerung der Nebennierenrinde, das andere Mal zur Änderung der absoluten Blutreaktion. Beide Stoffwechselgeschehen spielen sich im gleichen Milieu ab – im Erfolgsorgan, in der Muskulatur.

Es scheint, daß die für die Adrenalinumkehr verantwortliche Ergotaminwirkung, die ohnehin weniger mit dem nervösen als vielmehr mit dem muskulösen Element zu tun hat, auf diesem Wege und darin zu Stoffwechseländerungen führt, welche wahrscheinlich die Adrenalinumkehr bedingen.

Da die Versuche fortlaufen, enthalten wir uns vorläufig weiterer Besprechungen.

Zusammenfassung.

1. Ergotamin und Sensibamin, Ratten subcutan verabreicht, führen zur Nebenrindenhypertrophie der Tiere.

2. Dieser Zustand, sowie das zugrundeliegende Stoffwechselgeschehen ist demjenigen der tätigen, beanspruchten Muskulatur gleichzustellen. Die Auswirkung der beiden Alkaloide an der quergestreiften Muskulatur ist auf dieselbe Weise deutlich sichtbar.

3. Ergotamin und Sensibamin verursachen, intravenös gegeben, im Tierexperiment (Katze) regelmäßig Änderungen der absoluten Blutreaktion im Sinne einer Verschiebung auf die saure Seite.

4. Diese Reaktionsänderung geht unter Einwirkung von Sekalealkaloiden in demselben Sinne vor sich, wie beim normalen Muskel während seiner Kontraktionen.

5. Die durch Ergotamin verursachte Adrenalinumkehr scheint durch Stoffwechseländerungen im Erfolgsorgan bedingt zu sein.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Pécs, Ungarn.

Wirkung fortgesetzter Hefeeinnahme auf das physiologische Ergrauen.

Von

Anna Láncz os.

Mit 1 Textabbildung (2 Einzelbildern).

(Eingegangen am 17. April 1941.)

Unsere ursprüngliche Auffassung über das Wesen der Vitamine, welche mehr vom Negativen ausgehend zur Begriffsbestimmung führte, daß dieselben Ergänzungsstoffe sind, die in der Nahrung in Minimaldosen vorhanden sein müssen, da bei ihrem Fehlen tödliche Mangelkrankheiten auftreten, hat sich mit zunehmender Erkenntnis stark erweitert und gewandelt. Es zeigte sich nämlich einerseits, daß es außer den tödlichen Avitaminosen eine ganze Reihe weniger schwerer Mangelkrankheiten, die Hypovitaminosen, gibt und daß andererseits den Vitaminen — und zwar gerade oft in größeren Gaben — auch eine Heilwirkung zukommt, die von ihrer Aufgabe als Nahrungsstoffen unabhängig zu sein scheint (1). Die Vitamine sind nach einem Ausdruck von Kollath (2) nicht nur krankheitverhütend, sondern auch gesundheitnotwendig, und gerade die Untersuchung dieser ihrer hygienisch-physiologischen Rolle eröffnete in letzter Zeit ein weites reizvolles Gebiet der Forschung.

So wurde die Wirkung einer zusätzlichen Vitaminzufuhr auf die Aufhebung der Frühjahrsmüdigkeit, ferner auf die Förderung der Leistung bei Muskelarbeit — besonders beim Untrainierten, sowie bei erhöhter Außentemperatur — bekannt. Es konnte ein Zusammenhang zwischen Zahncaries und Vitaminversorgung gezeigt werden, wobei Versäumnisse in den ersten Lebenswochen sich für das ganze Leben auswirken sollen (3). Es zeigte sich, daß reichliche Vitaminversorgung die Anfälligkeit gegen Infektionskrankheiten vermindert. In neuester Zeit hebt Stepp (4) hervor, daß die Vitamine als Schutzstoffe gerade für ältere Leute von Bedeutung sind und diese besonders auf die Zufuhr einer sehr vitaminreichen Kost bedacht sein sollen.

Besonders geeignet zur allgemeinen Gesundheitsförderung sind die Vitamine der B-Gruppe, da einerseits nichts über schädliche Hypervitaminosen bei ihrer Überdosierung bekannt wurde, und da wir andererseits in der Bierhefe eine verhältnismäßig billige und leicht zugängliche Quelle derselben besitzen.

Im folgenden möchte ich nun über eine günstige Wirkung des Vitamin B-Komplexes berichten, die ich im Selbstversuch bei 2 Jahre hindurch fort-

gesetzter Einnahme größerer Mengen von Bierhefe gemacht habe. Diese besteht im Hintanhalten des physiologischen Ergrauens.

Der Ergrauensprozeß ist erst wenig geklärt. Es sind zwei Theorien über sein Entstehen aufgestellt worden. Die eine sieht die Ursache darin, daß das primär pigmentierte Haar seinen Farbstoff sekundär abgibt. Diese Ansicht wurde von Michelson (5) vertreten, der eine Abwanderung des Pigments in die Haarpapille und von dort in die Säfte des Körpers annahm, wobei nach Metschnikow (5) Phagozyten eine Rolle spielen sollen. Die Mehrzahl der Forscher glaubt, daß die Bildung des Pigments gestört ist. Hierbei lokalisieren Autoren, die einen mesodermalen Ursprung des Pigments annahmen, wie Jackson und Mc Murthy (5), ferner Ehrmann (5) u. a. den Vorgang in die Haarpapille, wo aus unbekannten Ursachen eine Störung der Pigmentbildung auftreten soll. Ihnen gegenüber stehen die Vertreter der epithelialen Pigmentbildung, wie Jarisch, Schwalbe und Bloch (6), nach welchen das Ergrauen darauf beruht, daß die Haarzellen selber, vor allem die Matrixzellen allmählich die Fähigkeit, Pigment zu bilden, einbüßen, wobei nach Bloch (6) ihr Unvermögen zur Bildung eines speziellen oxydativen Fermentes, der Dopaoxydase, das ausschlaggebende Moment ist.

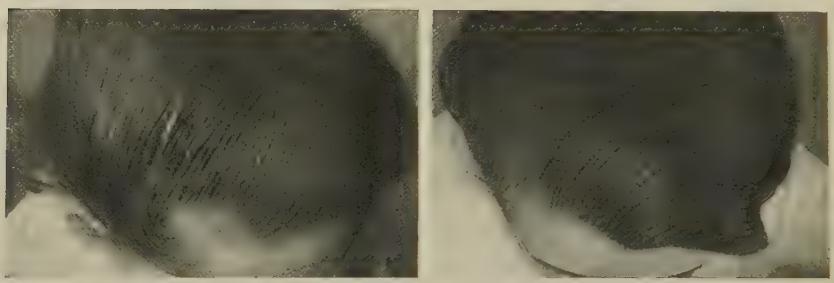
Sicherlich ist das Ergrauen ein komplexer Vorgang, bei dem viele Faktoren zusammenspielen. In neuer Zeit konnten Erfahrungen gesammelt werden, welche Beziehungen zwischen Diät und Ergrauen aufdecken. So fand ich (7) vor einigen Jahren bei schwarzen Hühnern, die einem chronischen Vitamin B-Mangel ausgesetzt wurden, einen Farbschwund des Gefieders, der durch Normalkost rückgängig gemacht werden konnte. Gleichzeitig berichteten Lunde und Kringstad (8) über Ergrauen von Silberfüchsen sowie schwarz-weißer Ratten bei einer Vitamin B-freien Kost. Lunde und Kringstad untersuchten diese Erscheinung eingehend. Sie fanden, daß nach Verfütterung von Bierhefe die normale Farbe wiedergewonnen wurde. Sie stellten des weiteren fest, daß das hierbei wirksame Prinzip der Hefe, das sie als Anti-graue-Haarfaktor B_x bezeichneten, thermolabil ist und nach der Fullererdeadsorption im Filtrat zurückbleibt, aber nicht mit dem ebenfalls hier befindlichen Wachstumsfaktor identisch zu sein scheint. Es sei noch erwähnt, daß vor mehreren Jahren Gorter (9) ebenfalls ein Abbleichen der Haare bei Vitamin B-freier Nahrung beobachten konnte, das durch Hefe reversibel war, diese Wirkung aber nicht den Vitaminen, sondern dem Kupfergehalt der Hefe zuschrieb.

Auf Grund obiger Befunde über einen Zusammenhang zwischen Vitamin B-Komplex und Bildung des Haarpigments lag der Gedanke nahe, diese Ergebnisse für die Bekämpfung des physiologischen Ergrauens auszuwerten und zu untersuchen, ob — ähnlich wie manche Anämien durch besonders reichliches Eisenangebot geheilt werden — es vielleicht möglich ist, die bereits geschwächte Pigmentbildung des Haares durch er-

höhte Vitaminzufuhr wieder anzuregen und somit das Ergrauen zu verhindern oder wenigstens zu verzögern.

Um dies zu prüfen, versuchte ich an mir selbst das Ergrauen, das sich seit einiger Zeit diffus bemerkbar machte, durch gesteigerte Vitamin B-Zufuhr zu beeinflussen. Das B-Vitamin nahm ich in der Form des Hefekonzentrats Philocytin der Cenovis-Werke, München. Die tägliche Gabe betrug im allgemeinen 2–3 Teelöffel voll, d. h. ungefähr 5 g. Inzwischen habe ich von Mai 1940 ab 6 Wochen lang in einer Belastungsprobe, über die an anderer Stelle berichtet werden soll, täglich 15 g Philocytin eingenommen*.

Die Hefeeinnahme wurde bis jetzt seit 2 Jahren fortgesetzt. Es zeigte sich hierbei kein völliger Schwund der weißen Haare, wohl aber hat ihre Zahl abgenommen, was um so bemerkenswerter ist, da ja unter gewöhnlichen Bedingungen ein Fortschreiten des Ergrauens zu erwarten gewesen wäre. Diese Verhältnisse werden durch die beiden Photographien



Januar 1940 März 1941

Abb. 1.

in Abb. 1 illustriert. Die erste wurde im Januar 1940 aufgenommen, nach 9 Monate lang dauernder Hefeeinnahme, die zweite ist im März 1941 angefertigt worden und gibt den Zustand nach 2 Jahre lang durchgeführter Hefebehandlung wieder. Es ist deutlich zu erkennen, daß die Zahl der weißen Haare auf der älteren Aufnahme reichlicher ist, indem hier merkliche weiße Streifen sichtbar sind, während auf der späteren Aufnahme nur vereinzelt depigmentierte Haare vorkommen, so daß sie auf dem Bilde sich kaum von den pigmentierten abheben, und das Haar hat im ganzen eine frischere, kräftigere Farbe.

Auffallend ist der langsame Eintritt des Wiedergewinnens der Haarpigmentation im Vergleich zu den genannten Tierversuchen. Hierbei ist daran zu erinnern, daß das physiologische Ergrauen nach den Untersuchungen mehrerer Autoren, wie Bloch (6), ferner Schein (10) sich nicht so entwickelt, daß die bereits pigmentierten Haare depigmentiert werden,

* Außer dieser Vitaminbelastung wurden die Haare wie sonst 2—3-wöchentlich gewaschen und ab zu mit Sulfoform, einem schwefelhaltigen Präparat, eingefettet.

sondern hauptsächlich auf die Weise, daß an Stelle der pigmentierten Haare neue, farbstofflose nachwachsen. Wenn dem so ist, dann ist es aber auch denkbar, daß auch beim umgekehrten Vorgang erst neue pigmentierte Haare nachwachsen müssen, was freilich eine längere Zeit in Anspruch nehmen dürfte. Für eine solche Möglichkeit spricht vielleicht ein eigenartiger Fall eines spontanen Wiederschwarzwerdens, über den von Jackson und Werner (5) berichtet wird. Es handelt sich um einen Mann, der allmählich weiß und im Laufe von 30 Jahren ohne feststellbare Ursache dreimal wieder schwarz wurde. Hierbei ging der Wechsel von schwarz zu weiß verhältnismäßig schnell, der Wechsel von weiß zu schwarz aber so langsam vor sich, daß das Zurückkehren der schwarzen Haare 5 Jahre in Anspruch nahm.

So scheint das bisherige Ergebnis meines Selbstversuches die Möglichkeit einer diätetischen Beeinflussung des Ergrauens durch den Vitamin B-Komplex zu erweisen, wobei erst der spätere Verlauf zeigen kann, ob die Reversibilität des Prozesses eine völlige ist, oder aber der Vorgang beim komplizierten und noch nicht übersichtlichen Zusammenspiel seiner verschiedenen Ursachen nur vorübergehend gehemmt wird.

Zusammenfassung.

Durch 2 Jahre lang fortgesetzte Einnahme größerer Mengen von Vitamin B in Form des Hefekonzentrates Philocytin konnte im Selbstversuch das Ergrauen gehemmt werden.

Literatur.

1) Stepp, W.-J. Kühnau-H. Schroeder: Die Vitamine und ihre klinische Anwendung, S. 8. Stuttgart, Ferdinand Enke, 1937. — 2) Kollath, W.: Grundlagen, Methoden und Ziele der Hygiene, S. 104. Leipzig, S. Hirzel, 1937. — 3) Mellanby, M.: angeführt nach Kollath, S. 125. — 4) Stepp, W.: Münch. med. Wschr. **1940**, I, 141. — 5) Galewsky, E.: Jadassohns Handb. d. Haut- u. Geschlechtskrankheiten **13**, I, S. 157. Berlin, Julius Springer, 1932. — 6) Bloch, Br.: Arch. Derm. (D.) **135**, 77 (1921). — 7) Lánczos, A.: Vortrag geh. an der 8. Tagung der ung. phys. Ges. 1938, ref. Ber. Phys. **108**, 671 (1938); Klin. Wschr. **1939**, I, 244. — 8) Lunde, G., u. H. Kringstad: Avh. Norske Vid.-Akad. Oslo 1938, angef. nach dieselben Z. physiol. Chem. **257**, 201 (1939), hier auch weitere Literatur. — 9) Gorter, F. J.: Z. Vitaminforsch. (Schwz.) **4**, 277 (1935). — 10) Schein, M.: Zbl. Hautkrkh. **11**, 15 (1924).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Bemerkungen

zu der Arbeit von Hanny Hurschler: „Die Toxizität der Sulfanilamid-Derivate für das Blut usw.“ [1]

Von

Wolfgang Heubner und **Hedwig von Restorff.**

(Eingegangen am 19. Juni 1941.)

Hanny Hurschler erwähnt (S. 440) eine Bemerkung aus einem Vortrag von Heubner, in dem unter Berufung auf Versuche von H. von Restorff angegeben war, daß einmalige Dosen von Sulfanilamid an Ratten zur Bildung von Verdohämochromogen geführt hätten. Dieser Befund hat sich im weiteren Verlaufe der Versuche als unsicher, vielleicht irrtümlich herausgestellt, ist daher auch in der Arbeit von H. von Restorff [2] nicht aufgeführt worden.

Wir benutzen die Gelegenheit, auch die Leser dieses Archivs darauf hinzuweisen, daß uns die von H. Hurschler wieder vertretene, weitverbreitete Auffassung, nach der die Entstehung von Heinzschen Körperchen in einer kausalen Beziehung zur Bildung von Methämoglobin stünde, beim heutigen Stande unseres Wissens nicht mehr haltbar erscheint [3].

---

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 438 (1941). — [2] Ebenda **196**, 10 (1940). — [3] Vgl. dazu Heubner, W.: Klin. Wschr. **1941**, S. 137.

COUNTWAY LIBRARY
HC 6EB8

U. HOLTER
RINDER
RODENKIRCHEN